BIBLIOTHÈQUE BIOLOGIQUE INTERNATIONALE

MICROCHIMIE VÉGÉTALE

GUIDE POUR LES RECHERCHES PHYTO-HISTOLOGIQUES

A l'usage des étudiants

PAR

V.-A. POULSEN

TRADUIT D'APRÈS LE TEXTE ALLEMAND

PAR

J.-Paul LACHMANN

Licencié ès sciences naturelles,
Préparateur à la Faculté des sciences de Lyon

ÉDITION FRANÇAISE, CONSIDÉRABLEMENT AUGMENTÉE
(EN COLLABORATION AVEC L'AUTEUR)

PARIS
OCTAVE DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1883


THE·LOUIS·C·C·KRIEGER·
MYCOLOGICAL·LIBRARY
AND·COLLECTIONS·GIFT·OF
HOWARD·A·KELLY·M·D·
TO·THE·UNIVERSITY·HER-
BARIUM·OF·THE·UNIVERSI-
TY·OF·MICHIGAN·1928·



BIBLIOTHÈQUE

BIOLOGIQUE INTERNATIONALE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

De M. J.-L. DE LANESSAN

Professeur agrégé d'histoire naturelle à la Faculté de médecine de Paris

XI

COULOMMIERS. — TYPOGRAPHIE PAUL BRODARD ET Cie.

BIBLIOTHÈQUE BIOLOGIQUE INTERNATIONALE

MICROCHIMIE VÉGÉTALE

GUIDE
POUR LES RECHERCHES PHYTO-HISTOLOGIQUES

A l'usage des étudiants

PAR

V.-A. POULSEN

TRADUIT D'APRÈS LE TEXTE ALLEMAND

PAR

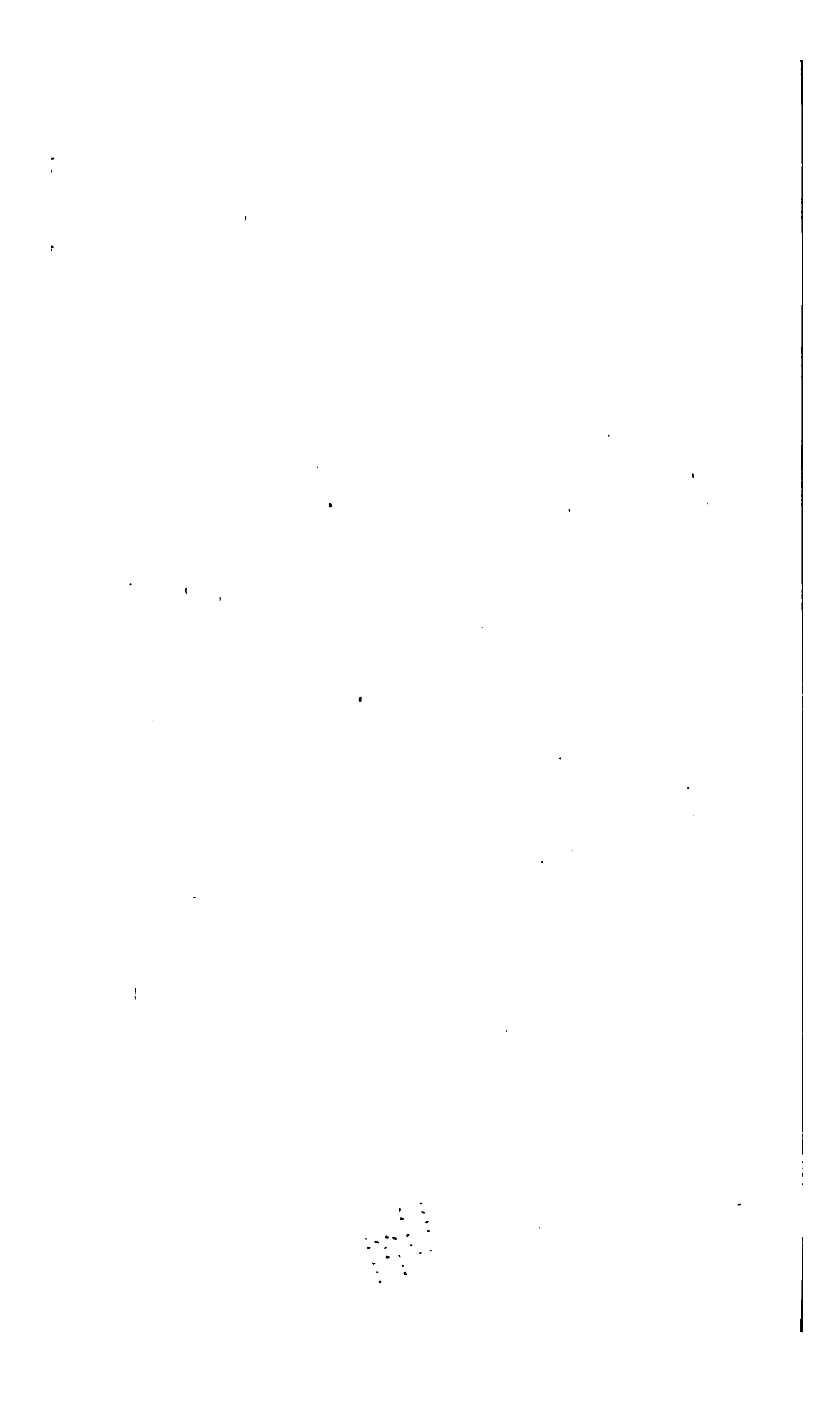
J.-Paul LACHMANN

Licencié ès sciences naturelles,
Préparateur à la Faculté des sciences de Lyon

ÉDITION FRANÇAISE, CONSIDÉRABLEMENT AUGMENTÉE
(EN COLLABORATION AVEC L'AUTEUR)

PARIS
OCTAVE DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1883



AVANT-PROPOS

Ce livre est, comme l'original danois publié en 1880, destiné à l'usage des étudiants en botanique.

Deux traductions augmentées et, je l'espère, aussi améliorées, ont été publiées depuis, l'une en allemand, par M. CARL MULLER, de Berlin; l'autre en italien, par M. le Dr ASER POLI, de Rome. Je remercie ces savants pour l'honneur qu'ils m'ont fait, ainsi que pour les amendements qu'ils ont apportés au texte original.

Plusieurs des notes supplémentaires et des corrections que j'ai insérées dans cette édition française, je les dois à M. le professeur WAR-

MING, à l'incitation duquel j'avais écrit mon opuscule danois; je prie M. WARMING de recevoir encore une fois mes remerciements les plus sincères.

En moins de deux ans, ce petit ouvrage a été publié en trois langues étrangères; cela m'autorise à penser que le souhait qui termine la préface de l'édition danoise a été exaucé; néanmoins je l'exprime ici de nouveau, en disant que mon but sera atteint si l'étudiant, encore novice dans l'usage des ressources techniques de la microscopie, peut retirer quelque notion utile de cet aperçu élémentaire.

Pendant le temps très court, écoulé depuis la publication de l'édition italienne, une foule de notes sur les réactifs microchimiques ont paru dans divers journaux et mémoires scientifiques. J'espère avoir inséré les plus importantes dans cette édition française; mais dans certaines parties de la science, qui sont pour ainsi dire en vogue, le nombre des publications est devenu si considérable que je n'ai pu les voir toutes; ainsi plusieurs notes sur la co-

loration des bactéries ont sans doute échappé à mon attention.

V.-A. POULSEN.

Copenhague, juin 1882.

L'auteur, trop modeste, a mis au titre de ce livre : *Guide à l'usage des étudiants*. Sans doute cet aperçu sera d'une utilité particulière à ceux qui débutent dans l'étude de la botanique; mais il est permis de croire qu'il rendra service même aux botanistes expérimentés, ne fût-ce qu'en leur évitant des recherches dans la bibliographie si disséminée concernant la microchimie.

Aucun ouvrage de ce genre n'existe encore dans notre littérature scientifique. Je remercie vivement M. POULSEN pour l'empressement avec lequel il m'a autorisé à combler cette lacune et surtout pour les nombreuses additions qu'il a faites à cette traduction, que je recommande à la bienveillance des botanistes français.

PAUL LACHMANN.

Lyon, juin 1882.

INTRODUCTION

Dans ces dernières années, la technique du microscope a fait des progrès auxquels on ne songeait guère au début de cette science. Le perfectionnement du microscope, cet instrument merveilleux, à l'aide duquel on a fait tant de belles et importantes découvertes, nous a ouvert dans l'histoire naturelle de la cellule une perspective qui devait nous inviter à scruter par toutes sortes de moyens, et autant que cela est possible, les éléments des organismes. Le spectroscope, le polariscope, la bobine d'induction, ces trois armes puissantes que BUNSEN, HUYGENS et FARADAY

ont mises à notre disposition, ont dû intervenir et augmenter la puissance de cet instrument que HANS et ZACHARIAS JANSSEN nous ont procuré. La photographie même a été dans ces derniers temps appliquée au microscope. Ainsi la physique s'est efforcée de perfectionner cet appareil le plus possible ; et c'est à la chimie de nous fournir les moyens qui permettent de reconnaître et d'interpréter aussi exactement que possible les objets que nous examinons ; en d'autres termes, si à l'emploi de l'appareil optique nous pouvons ajouter les services que rend une bonne méthode d'analyse chimique, nous serons en état de répondre à toutes les questions accessibles à l'esprit humain.

Cette analyse, appliquée à des objets examinés au microscope, constitue ce que nous appelons la *Microchimie.*

Dans l'exposé qui suit, j'ai cherché à faire connaître au lecteur les réactifs *les plus importants* employés en microchimie, c'est-à-dire les substances dont l'action sur les pré-

parations microscopiques permet de reconnaître la nature et la composition chimique et parfois même la structure physique de ces dernières. Dans la première partie, j'ai traité des réactifs employés dans le laboratoire, dans la seconde partie des substances végétales et de leurs réactions.

L'exactitude des indications données dans ce livre s'appuie, pour la plupart des substances, tant sur l'expérience de mon maître honoré le Dr WARMING que sur la mienne; de plus, j'ai pu utiliser des notes prises aux exercices pratiques et aux conférences du professeur HANSTEIN, à Bonn, que le Dr WARMING a mises complaisamment à ma disposition; enfin j'ai naturellement mis à profit, autant que le permettait le cadre de ce travail, les résultats et les méthodes consignés dans des ouvrages très nombreux et très différents. Je suis loin de croire que j'aurais dû épuiser la littérature concernant le sujet. Je n'ai pas davantage pris souci de mentionner *tous* les réactifs usités jusqu'à ce jour; c'est avec in-

tention que je me suis borné à réunir les plus essentiels.

A la fin de la première partie, j'ai intercalé un petit appendice sur les liquides dans lesquels il faut placer les objets que l'on désire conserver longtemps. J'ai ajouté de plus quelques mots sur les mastics employés pour luter les préparations.

Quelque séduisante que fût l'idée de joindre à cet exposé un aperçu du développement historique de la microchimie, j'ai pensé néanmoins qu'il serait préférable de n'en point parler, d'abord à cause des limites de ce livre, ensuite parce que cet historique est mieux à sa place dans un traité théorique et raisonné que dans un guide abrégé devant servir uniquement pour des exercices pratiques.

LISTE

DES OUVRAGES LES PLUS IMPORTANTS

CONSULTÉS PAR L'AUTEUR

Bachmann. Leitfaden zur Anfertigung mikroskopischer Dauerprëparate. — München, 1879.

Barcianu. Blüthenentwickelung der Onagraceen. — Schenk u. Luerssen's Mittheil. aus der Botanik, II, Heft 1, 1875, p. 81.

Bary (De). Morph. u. Phys. d. Pilze, Flechten u. Myxomyceten. — Hofmeister's Handb., II Bd., 1ste Abth. — Leipzig, 1866.

— Vergleichende Anatomie. — Hofmeister's Handb., III Bd. — Leipzig, 1877.

Behrens. Die Nectarien der Blüthen. — Flora, 1879.

Bommer. Bleuissement des fleurs du Phajus maculatus. — Bull. Soc. bot. de Fr., 1873. — Just, Bot. Jahresb., II, 2, 1874.

Bonnier. Les nectaires. — Ann. des sc. nat., VIe sér., t. 8, 1879.

Borodin. Ueber die physiologische Rolle und die Verbreitung der Asparagins im Pflanzenreiche Bot. Ztg., 1878, p. 801.

Borscow. Beitr. zur Histochemie der Pflanzen. — Bot. Ztg., 1874.

Brongniart. Ann. des sc. nat., Ire sér., t. 21, 1830.

Burgerstein. Sitzungsber. d. Wiener Akad., 1874, Bd., 70, p. 338.

Cario. Tristicha hypnoïdes. — Bot. Ztg., 1881, p. 31.

Cohn. Ueber den Brunnenfaden (Crenothrix polyspora) mit Bemerkungen über die mikroskop. Analyse des Brunnenwassers. — Beitr. z. Biologie d. Pfl., Bd. 1, Heft 1.
— Untersuchungen über Bacterien, II. — Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. 1, Heft 3.
— Bemerkungen über Organisation einiger Schwärmzellen. — Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. II Heft 1.
Deichmann-Branth et **Rostrup**. Lichenes Daniæ.
Detmer. Vergleich. Physiol. des Keimungsprocesses der Samen. — Iena, 1880, p. 308 et 320.
Dippel (Léop). Das Mikroscop. I et II. — Braunschweig, 1872.
— Die neuere Theorie über die feinere Structur der Zellhülle, 13 Taf., 1878.
Duchartre. Éléments de Botanique, 1877.
Ehrlich. Zeitsch. f. klin. Medicin, I, Heft 3; II, Heft 3. — Verhandl. d. phys. Ger. Berlin, 1879.
Epstein. De conjunctione cellulosæ cum cupro oxydato. Dissertatio, etc. Breslau, 1860. (Bot. Ztg., 1860, p. 234.)
Eriksson. Om Meristemet i dicotyla växters rötter. — Lunds Universitets arsskrift, t. XIII, p. 10, 1877.
Errera. Soc. belge de microscopie, 1881. — Botan. Centralblatt, VII, 1881, p. 126.
Fehling. Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 72, p. 106.
Flahaut. Accroissement terminal de la racine chez les Phanérog. — Ann. d. sc. nat., VI° sér., t. 6, p. 5, 1878.
Franchimont. Orig. et constit. chimique des résines de terpènes. (Arch. Néerland., t. VI, 1871, p. 426.)
Frémy. Mém. de l'Acad. — Paris, 1859. — Journ. de Pharm. et chimie, t. 36.
Fresenius. Quantit. chem. Analyse. — Braunschweig, 1853, p. 496.
— Traité d'analyse chim. quantitative. — Trad. fr., par C. **Forthomme.** Paris, 1875, p. 805.
Frey. Das Mikroskop., 1873.
Fritsche. Ueber den Pollen. — Mém. de l'Acad. des sc. de Saint-Pétersbourg, 1837.

Gulliver (G.). On Crystals, etc. (plusieurs mémoires). — Quart. Journ. of micr. sc., 1864 — et Monthly micr. Journ., 1873 et 1877.

Hanstein. Die Milchsaftgefässe u. verwandte Organe der Rinde. — Berlin, 1864.

— Die Scheitelzellgruppe im Vegetationspunkt d. Phanerog., 1868.

— Organe der Harz-und Schleim-Absonderung in den Laubknospen. — Bot. Ztg., 1868.

— Entw. des Keimes. — Bot. Abhdl., Bd. I, Heft 1.

Hartig (Th.) Weitere Mittheil. das Klebermehl (Aleuron) betreffend. — Bot. Ztg., 1856, p. 262.

— Entwickelungsgeschichte des Pflanzenkeimes. — Leipzig, 1858.

— Der Füllkern, etc. — Karsten's Bot. Untersuch., I, 1867.

Hegelmaier. Bau u. Entw. einiger Cuticulargebilde. — Prings. Jahrb., IX, 1873-74.

— Vergl. Unters. über Entw. dikot. Keime, 1878.

Hofmeister. Die Pflanzenzelle. — Handb. d. physiol. Bot., Bd. I. — Leipzig, 1869.

Hohnèl (Franz v.). Ueber Kork u. verkorkte Gewebe überhaupt. — Sitzungsber. d. Wiener Akad., Bd. 76, 1ste Abth., 1877, p. 507-662.

— Histochem. Unters. über das Xylophilin u. das Coniferin, *l. c.*, pp. 663-716.

Holzner (G.). Ueber die Krystalle in der Pflanzenzelle. — Flora, 1864.

— Ueber die physiol. Bedeutung des oxalsaueren Kalkes. — Flora, 1867 et 1868.

— Beitr. z. Kenntniss der Pflanzenkrystalle. — Kaiser's. Zeitsch. f. Mikroskopie, I, 1878, p. 236.

Kabsch. Chem. Beschaffenheit d. Pflanzengewebe. — Prings. Jahrb., III, 1863, p. 357.

— Ueber d. Haare d. Samenschopfes der Asclepiadeen. — Bot. Ztg., 1863, p. 63.

Kaiser. Zeitschrift f. Mikroskopie, I Bd., 1877-78.

— Verfahren z. Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatin. — Botan. Centralblatt, 1880, p. 25.

Karsten. Gesammelte Beitr. z. Anat. u. Physiol. d. Pflanzen, I, 1865, p. 253.

Kiliani. Ueber Inulin. Diss. München, 1880.

Klein (J.). Krystalloïde d. Meeresalgen. — Flora, 1880, p. 65.

Koch. Verfahren z. Conserviren u. Photographieren der Bacterien. — Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. II, Heft 3, p. 399.

— Unters. über die Entw. der Cuscutaceen. — Hanstein's. Bot. Abhdl., II, Heft, 3.

Koch. Untersuchung path. Organismen. — Berichte d. Kais. Gesundheitsamts. Bd. I, Berlin, 1881.

Kraus. Ueber Eiweiss-Krystalloïde in der Epidermis von Polypodium irioides Lam. — Prings. Jahrb., VIII, 1872, p. 426.

— Das Inulïn. — Vorkommen ausserhalb der Compositen. Bot. Ztg., 1877, p. 329.

Lœw u. Bokorny. Biolog. Centrablatt, I, 1881, p. 193. Pflügers Arch., Bd. 25, Heft 3 u. 4.

Maschke. Pigmentlösung als Reagenz bei mikroskopisch-physiol. Unters. — Bot. Ztg., 1859, p. 51.

Meyen. Anat-physiol. Unters. über d. Inhalt der Pflanzenzellen. — Berlin, 1828.

Millon. Ann. de chim. et de phys., 3e sér., t. 29, p. 507.

Mohl (Hugo v.). Vermischte Schrift. botanischen Inhalts. Tübingen, 1845.

— Blaue Färbung d. vegetab. Zellmembr. durch Jod. — Flora, 1840.

Müller (N. I. C.). Unters. über die Vertheilung der Harze, etc., im Pflanzenkörper. — Prings. Jahrb., V, p. 397.

— Handb d. Botanik ; I Allgem. Bot. ; 1ste Theil, Anat. u. Physiol. d. Gewächse. — Heidelberg, 1880.

Nageli (C.). Die Stärkekörner. — Zurich, 1858.

— Verhalten d. Zellhaut zum Iod. — Sitzungsb. d. bayer. Akad. d. Wiss., 1863.

Nageli (C.). u. **Schwendener** : Das Mikroskop., 1877, 2te Aufl.

Neisser. Weitere Beitr. z. Ætiol. der Lepra. — Virchow's Archiv., Bd. 84, 1881 ; p. 514.

Niggl. Das Indol als Reagenz auf verholzte Membranen. — Flora, 1881, n° 35.

Nordstedtd. Om Användandet af gelâtin-glycerin vid undersökning og preparering af Desmidieer. — Botaniska Notiser, 1876, Nr. 2.

Oels. Anat. der Droseraceen. Diss. Breslau, 1879.

Pelletan. Le microscope, 1876.

Planeth (H.). Mikrochem. Analyse d. vegetabilischen Zelle. — Promotionsschrift an der Univers. Rostock, 1873.

Pfeffer. Die Proteinkörner. — Prings. Jahr., VIII, 1872, Ann. des sc. nat., V[e] série, t. 19, p. 391.

Pfitzer. Die Bacillariaceen. — Hanstein's, Bot. Abhdl., I, 2 Heft, 1871.

Poli (A.) I cristalli di ossalato calcico nelle plante. Roma, 1881.

Poulsen. Om nogle mikroskopiske Plante-organismer. — Vidensk. Meddel. Kiöbenhavn, 1879-80.

Prantl. Das Inulin, 1870.

Pringsheim. Unters. über d. Chlorophyll., IV. Das Hypo chlorin u. die Bedingungen seiner Entstehung in der Pflanze. — Monatsb. d. Berlin. Akad., Nov. 1879.

Radlkofer. Krystalle proteinartiger Körper, 1859.

Raspail. Développement et analyse microscop. de la fé cule. — Ann. des sc. nat., I[re] sér., t. 6.

— Chimie organique, II, 1839, p. 139.

Richter (C.). Chem. Beschaffenh, d. Zellmembr. bei den Pilzen. — Sitzber. de Wiener Akad., Bd. 83, 1881.

Rosenvinge. Sphærokrystaller hos Mesembrianthemum. — Bot. Tidsskrift, 1878.

Rostafinski. Bot. Ztg, 1881, p. 461.

Russow. Vergl. Unters. über Leitbündel Kryptogamen. — Mém. de l'Acad. des sc. de Saint-Pétersbourg, VII[e] sér., t. 19, n° 1, 1872.

Russow. Verbreitung der Callusplatten. — Sitzber. d Dorpater naturf. Ges., 1881, p. 63.

Sachs. Keimung. der Gräser. — Keim. d. Dattel. — Bot. Ztg., 1862.
— Keim. von Allium Cepa. — Bot. Ztg., 1863, n° 8-9.
— Ueber die Stoffe, welche das Material zum Wachsthum der Zellhaut liefern. — Prings. Jahrb., III, 1863.
— Lehrbuch d. Botanik. 4te Aufl., 1874.
— Ueber die Sphærokrystalle des Inulins und dessen mikroskopische Nachweisung in den Zellen. — Bot. Ztg., 1864, n. 12 et 13.
— Mikrochemische Untersuchungen. — Flora, 1862, p. 289.
Sachsse. (Rob.) Chem. u. Physiol. d. Farbstoffe, Kohlenhydrate u. Proteïnsubstanzen. Leipzig, 1877.
Salomonsen. Studier over Blodets Forraadnelse. Kjöbenhavn, 1877.
Sanio. Bot. Ztg., 1860 u. 1863, divers mémoires.
— Anatomie d. Kiefer. — Prings. Jahrb. 1873-74.
Schacht (H.) Die Pflanzenzelle, 1852.
— Das Mikroskop., 1855.
— Anat. u. Physiol. d. Gewächse, I, 1856.
— Ueber den Bau einiger Pollenkörner. — Prings. Jahrb. II, 1860, p. 109.
Schimper A. Unters. über Proteinkrystalloïde der Pflanzen. — Strassburg, 1879.
Schleiden. Wiegmann. Arch., 1838, I.
Schmitz (Fr.). Beobacht. über die vielkernigen Zellen der Siphonocladiaceen. — Halle, 1879.
— Niederrhein. Gesellschaft. Nov. 1879.
Schultze (M.). Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 71, p. 270.
Schweitzer. Vierteljahrschrift naturf. Ges. — Zurich, Bd. II, 1857.
Strasburger. Befruchtung und Zelltheilung, 1878.
— Studien über Protoplasma, 1876.
— Zellbildung und Zelltheilung, 3e Aufl. — Jena, 1880.
Tangl. Das Protoplasma der Erbse. — Sitzungsber. d. Wiener Akad, 1877-78, Bd. 76 p. 753-822; Bd. 78, p. 65-188.
Treub. Méristème primitif de la racine des monocotylédones. — Musée de Leyde, t. II, 1876, p. 9.

— Surle rôle du noyau dans la division des cellules, 1878. Naturk. Verh. d. K. Akad., vol. XIX, Amsterdam.

— Sur des cellules végétales à plusieurs noyaux. — Archives néerlandaises, t. XV, p. 7. — Mém. sép. p. 15.

Van Tieghem. Traité de Botanique, 1882.

Vesque (I.) Anatomie comparée de l'écorce. — Ann. des sc. nat.

Vogl. Anat. u. Histol. d. unterirdischen Theile von Convolvulus arvensis. — Sitzungsber. d. Wiener. Akad., Bd. XIII, 1863, p. 257.

— Bau des Holzes von Ferreira spectabilis. — Prings. Jahr., IX, 1873-74.

Vries (Hugo de). Keimungsgesch. des rothen Klees. — Landwirthschaftliche Jahrb., Bd. VI, 1877.

— Ueber die Bedeutung der Kalkablagerungen in den Pflanzen. — Landwirthsch. Jahrb., B. X, 1881.

Ward. The embryosac and development of Gymnadenia conopsea. — Quart. journ. of micr. sc., 1880, vol. XX, p. 2.

Weigert (C.). Zur Teknik d. mikrosk. Bacterienuntersuchungen. — Virchow's Archiv. für path. Anat., Bd. 84, 1881, p. 275.

Weiss. Die Pflanzenhaare. — Karsten's Bot. Unters., I, 1867. — Allgem. Botanik, I Bd., 1878.

Wiesner. Technische Mikroskopie. — Wien, 1867.

— Anat. u. histochemisches über das Zuckerrohr. — Karsten's Bot. Unters. I, 1867.

— Das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholtz. Zellmembran. — Sitzungsber. d. Wiener Akad., 1878, Bd. 77, I Abth., p. 60.

Wigand. Intercellularsubstanz u. Cuticula, 1850.

— Ueber d. Verhalten der Zellmembran zu den Pigmenten. — Bot. Ztg., 1862, p. 129.

BIBLIOGRAPHIE

CONCERNANT LES MATIÈRES COLORANTES DES PLANTES

(Les travaux sur les phénomènes spectroscopiques et autres phénomènes physiques ne sont pas cités.)

Askenasy. Bot. Ztg., 1867, p. 227 ; 1869, p. 785.
Brown (R.). Cmst. — Manual of Botany, p. 589.
Cohn. Bot. Ztg., 1867, p. 38.
Frémy. Ann. des sc. nat., t. XIII, 1860.
Hildebrandt. Die Farben d. Blüthen. — Prings. Jahrb., III.
Kützing. Phycologia generalis, p. 17 et sqq.
Millardet. Comptes rend. de l'Acad., 1869. (Voy. aussi Bot. Ztg., 1869, p. 332.)
Müller (N. I. C.). Handb. d. Bot., I Bd. Allgem. Bot. 1 ster Theil, 1880, p. 562.
Nägeli u. Schwendener. Das Mikroskop., 1877, p. 528.
Prantl. Bot. Ztg, 1871, p. 619.
Pringsheim. Monatsber. d. Berl. Akad., Oct. 1874. Dec. 1875.
Rosanoff. Mém. de la Soc. de Cherbourg, XIII, 1867. — Bot. Ztg., 1866, p. 182.
Sachsse (R.). Die Farbstoffe, Kohlenhydrate u. Proteinsubstanze. Leipzig, 1877.
Timirjaseff. Das Chlorophyll, 1871.
Trécul. Ann. des sc. nat., IVe sér., t. 10, 1858.
Weiss. Allgem. Bot., I, 1878, p. 106-138.
Wiesner. Bot. Ztg., 1862. — Flora, 1874.

Outre les ouvrages indiqués dans la liste précédente nous en avons consulté une foule d'autres, qui sont cités dans le texte.

MICROCHIMIE VÉGÉTALE

PREMIÈRE PARTIE

LES RÉACTIFS MICROCHIMIQUES ET LEUR EMPLOI

1. Iode.

L'iode est un des premiers réactifs microchimiques qu'on ait employés au service de la Botanique [1], et actuellement encore il faut le considérer comme un des auxiliaires les plus indispensables dans les travaux micrographiques.

Ce réactif est employé en solution soit dans l'alcool pur, soit dans l'eau distillée ou la glycérine ou le chlorure de zinc contenant de l'iodure de potassium en dissolution. La concentration de

1. Nägeli u. Schwendener, *Das mikr.*, p. 473 — Dippel, *Das Mikr.*, p. 273. — Sachs, *Prings. Jahrb.* III, *Lehrb.*, 1874, p. 34, 40, 58. — Mohl, *Vermisch. Schrift.*, p. 335. — Hofmeister, *Handb.* I, p. 252 et 387. — Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 18, 77, 159. — Schleiden, *l. c.*, p. 59, 39. — Raspail, *Ann. des sc. nat.*, I[re] sér., t. 6, p. 388. — Meyen, *l. c.*, p. 21.

la solution se règle suivant les besoins du moment où l'on s'en sert; en général, on se trouve bien d'une solution au 5 0/0. Souvent les effets de solutions même assez faibles sont très manifestes. Suivant la nature du dissolvant, on donne aux différentes préparations iodées les noms de : teinture d'iode ou alcool iodé, glycérine iodée, iodure de potassium iodé, eau iodée, chlorure de zinc iodé.

L'iode est un excellent réactif et même le seul sur lequel on puisse compter pour reconnaître l'*amidon*. Une préparation iodée quelconque, pourvu qu'elle contienne une quantité même minime d'*iode libre*, est capable de déceler cet hydrate de carbone, à la condition toutefois que les grains d'amidon ou la préparation iodée qu'on emploie renferment de l'eau. Si l'on se sert de l'alcool iodé, il faut donc ajouter de l'eau à la préparation microscopique.

Cette réaction, qui fut découverte par *Stromeyer* [1], est bien connue. Les grains d'amidon prennent, suivant la concentration du réactif et la durée de son action, une coloration bleue ou violette plus ou moins intense, qui disparaît lorsqu'on chauffe la préparation, mais réapparaît lors du refroidisse-

1. Nägeli, *Die Sträkekörner*. — Wiesner, *Technische Mikr.*, p. 73.

ment; on peut aussi la faire disparaître définitivement par une solution d'hyposulfite de soude. Si l'on traite de l'amidon sec par du chloroforme iodé ou de l'alcool iodé parfaitement anhydre, les grains brunissent peu à peu; l'amidon nous fournit donc un moyen commode de reconnaître la présence de l'eau dans l'alcool. D'après *Nägeli*, les grains d'amidon sont composés d'amylocellulose et de granulose; c'est sur cette dernière combinaison du carbone que l'iode agit; si l'on extrait cette granulose (par digestion dans de la salive à 45-55° C., par l'action de la pepsine, de la diastase, des acides organiques, ou par l'action prolongée de l'acide sulfurique ou chlorhydrique dilué), les grains sont colorés en jaune ou en brun par les solutions iodées.

La plupart des membranes cellulosiques deviennent jaunes ou brunâtres par l'iode, surtout en solution récemment préparée. Cependant les paraphyses et les parois des asques (hymenium) des Lichens font exception; elles prennent souvent une coloration bleue comme l'amidon.

Mais, si l'on fait agir préalablement de l'acide sulfurique concentré, de l'acide phosphoriqne concentré ou une solution aqueuse de chlorure de zinc (voir plus loin) sur les *membranes cellulosiques*, celles-ci prennent par l'iode une belle couleur bleue;

dans ce cas la cellulose est transformée, par l'action des substances mentionnées, en « amyloïde [1] », substance analogue à l'amidon. L'acide iodhydrique produit également cette réaction, et c'est pourquoi des solutions iodées anciennes colorent souvent la membrane cellulaire immédiatement en bleu, parce que sous l'influence de l'eau ou de l'alcool il s'est formé de l'acide iodhydrique dans le liquide. Si on laisse dessécher une membrane cellulosique placée dans une solution d'iode, elle bleuira souvent lorsqu'on humectera la préparation avec de l'eau, parce que la matière organique a provoqué la formation d'acide iodhydrique. Les membranes épidermiques d'un grand nombre de graines et de péricarpes, susceptibles de donner des mucilages, ne se colorent en bleu par l'iode qu'après s'être gonflées dans une certaine mesure dans une solution aqueuse, et il n'est pas rare qu'une membrane placée dans une solution d'iode passe, en un temps plus ou moins long, par diverses nuances. La plupart des substances qui, de concert avec l'iode, effectuent le bleuissement des membranes, font gonfler celle-ci à peu près dans la mesure indiquée par l'énumération suivante, où elles sont rangées par ordre croissant d'action :

1. Qui ne doit pas être confondu avec la substance de même nom des zoohistologistes.

iodure de potassium, iodure de zinc, acide nitrique, acide phosphorique, hydrate de potasse, acide iodhydrique, acide sulfurique.

Nous avons donc dans l'iode, employé avec une substance produisant de l' « amyloïde », un réactif précieux de la cellulose pure.

Une membrane qui, traitée par l'acide sulfurique et l'iode, ne bleuit pas, est imprégnée par des substances étrangères ou doit être considérée comme modifiée chimiquement. Tel est le cas des membranes des cellules ligneuses et des vaisseaux, du suber et ordinairement aussi des cellules de la gaine des racines; les substances contenues dans ces membranes (lignin, subérine) doivent d'abord être éliminées en traitant alternativement par des acides et des alcalis et en lavant successivement à l'alcool, à l'éther ou au chloroforme. La réaction de la cellulose peut alors se produire nettement. On n'a encore trouvé aucune membrane cellulaire, pas même la carapace siliceuse des Diatomées, qui ne contienne de la cellulose.

Dans l'examen des Lichens, les réactifs chimiques jouent un rôle important [1]. La solution d'iode employée généralement se compose de

1. Deichmann-Branth et Rostrup, *l. c.*, p. 17. — De Bary, *Morph. u. Phys. de Pilze, etc.*, p. 281.

5 centigrammes d'iode, 20 centigrammes d'iodure de potassium et 16 grammes d'eau distillée. Les coupes minces de la couche à spores se colorent généralement en bleu; celles de la couche médullaire prennent quelquefois cette coloration, celles du thalle plus rarement. Il peut également se produire une coloration rouge vineuse qui indique que la constitution de ces membranes est différente de celle des autres.

En ce qui concerne le corps protoplasmique des cellules [1], il faut noter tout d'abord que tout protoplasma vivant est tué par l'iode qu'il absorbe alors très rapidement en se colorant fortement en brun. Cette réaction se manifeste surtout dans les noyaux cellulaires et les grains de chlorophylle, ainsi que dans la masse fondamentale azotée des granules protéiques, pour la reconnaissance desquels on emploie avec avantage une solution qui ne soit pas trop étendue. Une quantité extrêmement faible d'iode suffit pour tuer le protoplasma; c'est pour cela et grâce aussi à ses propriétés colorantes que l'iode fournit un excellent moyen de rendre plus nette et plus facile l'observation des Bactéries, des cils vibratiles de celles-ci et des autres organismes microscopiques. Pour l'étude

1. Sachs, *Lehrb.*, 1874. — Weiss, *Allg. Bot.*, p. 77. — Tangl, *l. c.*

des granules protéiques, on emploie avec beaucoup de succès la *glycérine iodée*, qui en même temps éclaircit la masse granuleuse.

Dans les grains de chlorophylle, l'amidon [1] est très facilement décelé par l'iode ; il suffit pour cela d'examiner dans l'iodure de potassium iodé des coupes suffisamment minces qu'on a préalablement traitées par l'alcool ou par la potasse et l'acide acétique; les grains d'amidon gonflent et prennent alors une couleur bleue bien nette.

Toutes les préparations colorées par l'iode perdent leur couleur avec le temps. Les solutions d'iode employées en microchimie doivent être conservées à l'obscurité, afin que l'action de la lumière ne provoque pas trop rapidement la formation d'acide iodhydrique.

En transportant les coupes ou d'autres préparations de l'eau dans l'alcool pur iodé, il se forme souvent dans le liquide de petits cristaux noirs, rhombiques, d'iode précipité.

Les corps connus sous le nom de *cristalloïdes* sont formés de matières protéiques et se colorent par conséquent en jaune par l'iode. Il en est de même des sphéro-cristaux d'*inuline;* mais ici la coloration n'est pas due à une véritable réaction

1. Sachs, *Prings. Jahrb,* III, p. 200. — *Flora*, 1862, p. 166. — Weiss, *Allg. Bot.,* p. 111.

de l'iode, mais à une simple infiltration de la solution brune dans les fines fissures des sphérocristaux.

2. Chlorure de zinc iodé.

Dans le paragraphe précédent, il a déjà été question d'une solution d'iode préparée avec du chlorure de zinc [1]; nous devons maintenant en parler avec plus de détails.

Pour préparer ce réactif, on dissout du zinc dans de l'acide chlorhydrique pur; on évapore à 115° C. jusqu'à ce que la liqueur ait un poids spécifique égal à 2, en agitant continuellement avec une lame de zinc métallique; on ajoute ensuite de l'eau distillée de manière à ramener le liquide à un p. sp. = 1,8, puis de l'iodure de potassium jusqu'à saturation, et dans ce mélange on dissout autant d'iode que possible; enfin on chauffe jusqu'à ce qu'il se produise des vapeurs d'iode [2]. Le réactif ainsi préparé doit avoir une couleur rouge-brun, avoir l'odeur de l'iode et déposer à la longue de petits cristaux d'iode pur. Il doit être conservé dans un

1. Nägeli, Verh. de Zellh. z. Iod., p. 383. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 474. — Mohl, *Blaue Färbung*, etc. — Autres ouvrages cités à l'article *Iode*.

2. Le mode de préparation indiqué par Groenland, Cornu et Rivet est défectueux; la chose essentielle, c'est-à-dire l'iode libre, manque précisément dans leur préparation (*Des préparations microscopiques*, Paris, 1872, p. 75).

flacon de verre foncé, sans quoi la lumière y provoquerait la formation d'acide iodhydrique.

Toutefois cette altération n'a pas ici les mêmes inconvénients que pour les autres réactifs iodés employés en microchimie.

Le chlorure de zinc iodé est un excellent réactif pour reconnaître la *cellulose pure,* parce que l'un de ses composants, le chlorure de zinc, la transforme en « amyloïde », qui se colore ensuite en bleu ou violet par l'iode libre. Les membranes cellulaires formées de cellulose modifiée ne bleuissent pas par ce réactif : les cellules ligneuses, les vaisseaux, les cellules subéreuses et la gaine des racines, la couche cuticularisée des cellules épidermiques, l'exine des grains de pollen et l'exospore des spores, de même que les membranes contenant du lignin et de la subérine, sont colorés en jaune; la cuticule proprement dite ne se colore point. L'amidon bleuit, mais les grains gonflent rapidement et se détruisent. Fait singulier, les membranes cellulaires des champignons (parois des hyphes), constituées par ce qu'on appelle cellulose des champignons (fungine), ne sont pas colorées en bleu par ce réactif [1] (ni par l'iode et l'acide sulfurique).

1. Schacht, *Die Pflanzenzelle*, p. 143 et sep. — Hofmeister, *Handb.*, p. 258.

Comme réactif du *tannin*, on se sert de chlorure de zinc iodé très étendu, qui donne une couleur rougeâtre ou violacée aux cellules à contenu tannique [1].

3. Hydrate de potasse (KHO).

A côté des préparations iodées, les solutions d'hydrate de potasse occupent une place très importante dans la série des réactifs microchimiques [2]. La substance qu'on trouve dans le commerce sous le nom de *potasse caustique* s'emploie en solution aqueuse ou alcoolique de concentration variable suivant les circonstances; une solution de force moyenne (20 0/0; le p. sp. de la solution doit être = 1,198) est la plus convenable, car on peut toujours la diluer; il est vrai qu'une solution concentrée agit plus rapidement, mais elle détruit aussi très vite les tissus.

La préparation de la solution *aqueuse* de potasse exige que l'on prenne la précaution de ne pas ajouter à l'eau de grandes quantités de potasse à la fois, car le liquide s'échauffe beaucoup par l'effet de la dissolution.

1. Sanio, *Bot. Ztg*. 1863 — Dippel, *Das Mikr.*, I, p. 375.

2. Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 472 et 525. — Dippel, *l. c.*, p. 278. — Wiesner, *Tech. Mikr.* — Sachs, *Ueb. d. Stoffe, etc.* — *Keim. von Allium Cepa.* — *K. der Dattel.*

La solution *alcoolique* ou alcool potassique de *Russow* se prépare de la manière suivante [1] :

On mélange de l'alcool à 85-90° avec une solution aqueuse concentrée de potasse caustique, jusqu'à ce qu'il se forme un précipité. Après agitation fréquemment répétée, on abandonne le liquide à lui-même pendant vingt-quatre heures, puis on décante la partie claire, légèrement jaunâtre, et on l'étend avec de l'eau distillée. *Russow* emploie deux solutions diversement étendues : 1 p. d'eau distillée pour 2 ou 3 p. de solution alcoolique.

Comme les solutions de potasse absorbent facilement l'acide carbonique de l'air, les récipients doivent être bien bouchés; de plus, elles déposent facilement des cristaux dans le goulot du flacon et attaquent même le verre; il est donc nécessaire de les déboucher fréquemment ou mieux de les boucher avec du liège.

Dans la technique du microscope, l'usage de la potasse est basé sur ses propriétés dissolvantes et ramollissantes (c'est-à-dire hydratantes). Elle dissout un grand nombre de petites granulations du protoplasma, décolore beaucoup de matières colorantes, forme avec les matières grasses des savons

1. Russow, *l. c.*, p. 15, Anm.

solubles et fait gonfler l'amidon, qui surtout rend les tissus opaques. Grâce à ses propriétés, elle détruit les corps protoplasmiques des cellules et rend celles-ci plus claires et plus transparentes; elle joue donc un grand rôle comme *moyen d'éclaircir* les coupes, qui sans cela seraient opaques, surtout celles des méristèmes; elle permet ainsi d'étudier de grandes masses de tissus, et souvent même elle suffit pour éclaircir des organes entiers [1] (embryons, poils, coupes du sommet de la tige ou de la racine, ovules, etc.; tiges et feuilles entières dans l'étude de la marche des faisceaux fibro-vasculaires, etc.).

Une méthode de ce genre a été proposée par *Hanstein*. Les sections sont d'abord traitées par la potasse, ensuite lavées et neutralisées par l'acide chlorhydrique ou l'acide acétique; si par ce traitement elles deviennent trop obscures, on peut de nouveau les éclaircir en les lavant à l'eau et les traitant par l'ammoniaque liquide; si au contraire elles sont devenues trop claires, on y remédie en les traitant par une solution aqueuse d'alun. Quelquefois, il faut répéter l'opération plusieurs fois pour que l'effet désiré se manifeste. Après avoir lavé à l'eau distillée les sections ainsi préparées on

1. Hanstein, *Scheitelzellgruppe, etc.* — *Entw. d. Keimes Bot. Abhdl.*, p. 5. — Koch, *Cuscuta, l. c.*, p. 25. — Oels, *l. c.*, p. 13.

peut les conserver longtemps sans altération dans la glycérine, qui les éclaircit encore davantage.

L'*alcool potassique de Russow*, employé dans le même but, est préférable dans la plupart des cas; l'alcool en effet ne fait pas gonfler les membranes cellulaires autant que cela se produit souvent dans le procédé de Hanstein. Dans ce procédé, on peut également employer l'acide acétique comme agent neutralisateur et la glycérine comme liquide conservateur. La potasse fait gonfler les grains d'*amidon* et les détruit; aussi elle peut servir pour éclaircir les tissus amylifères (p. ex. albumen des graines).

La solution aqueuse de potasse gonfle les parois cellulaires et fait ainsi souvent apparaître plus nettement leurs diverses couches; cette action se manifeste surtout dans le *collenchyme*.

Pour les macérations, c'est-à-dire pour isoler des cellules, on peut dans beaucoup de cas employer la solution de potasse chaude, qui dissout la substance intercellulaire. On isole ainsi non seulement des cellules, mais des systèmes entiers de faisceaux fibro-vasculaires. Il suffit de faire bouillir dans une solution de potasse un fragment de plante, jusqu'à destruction de toute la partie non ligneuse, et l'on obtiendra en lavant avec soin un beau squelette formé par le réseau des

faisceaux fibro-vasculaires. La préparation de tels squelettes est parfois intéressante pour étudier le trajet de ces faisceaux, surtout de ceux qui vont innerver les feuilles.

La potasse peut aussi servir comme réactif de la *subérine* [1]. Si l'on fait bouillir fortement, dans la solution de potasse, des coupes minces de tissu subéreux, la subérine se sépare des membranes sous forme de goutelettes jaunes qui deviennent confluentes.

Les membranes cellulaires qui à cause des *matières* dites *incrustantes* ne présentent pas immédiatement les réactions de la cellulose peuvent souvent être débarrassées de ces substances à l'aide de la potasse bouillante [2] et de l'acide nitrique ou d'un autre acide, de telle sorte que la réaction du chlorure de zinc iodé ou celle de l'acide sulfurique et de l'iode se manifeste nettement (cellules ligneuses, vaisseaux, etc.).

Dans quelques cas, le *tannin* peut être reconnu à l'aide de la potasse; les cellules à tannin, que les sels de fer colorent en *vert*, deviennent *jaunes* par le traitement à la potasse.

Borscow [3] a introduit l'usage de la potasse comme

1. Höhnel, *l. c.*, p. 16.
2. Hofmeister, *Handb.*, I, dans différents paragraphes.
3. Borscow, *l. c.*, p. 15, Anm.

réactif de l'acide *chrysophanique*. Les cellules qui en contiennent se colorent en rouge pourpre.

Sachs a employé la potasse comme réactif analytique dans différentes études physio-histologiques, car elle donne avec le sulfate de cuivre [1] de bonnes réactions pour différentes sortes de *sucres*, de *matières protéiques* et d'*hydrates de carbone* (voy. l'article ***Sulfate de cuivre***).

Quand on traite du *protoplasma* d'abord par de l'acide nitrique et ensuite par de la potasse diluée (ou de l'ammoniaque), il se colore en beau jaune, grâce à la formation de xanthoprotéinate de potasse (ou d'ammoniaque [2]).

Les *cristalloïdes* gonflent dans la potasse et modifient leurs angles dièdres, ce qui démontre leur nature organique.

4. Ammoniaque (NH^3,H^2O).

Une solution concentrée (p. sp. = 0,960) de gaz ammoniac dans de l'eau, appelée ammoniaque liquide, sert, au lieu de potasse, dans beaucoup de circonstances où l'action de celle-ci serait trop énergique [3]. A part cela, nous avons déjà parlé

1. Voy. les ouvrages déjà cités. — Hugo de Vries, *l. c.*, p. 468.
2. Dippel, *Das Mikr.*, II, p. 10, 18.
3. Dippel, *Mikr.*, I, p. 279. — Weiss, *Allg. Bot.*, p. 77, 144.

de son emploi dans la méthode d'éclaircissement des tissus de Hanstein (p. 12).

On l'emploie comme réactif des composés protéiques et des cristalloïdes, après avoir traité ceux-ci par l'acide nitrique (p. 20) pour accentuer la couleur de la réaction de la xanthoprotéine. Si l'on traite une coupe mince d'un tissu à parois épaissies par l'acide nitrique et puis par l'ammoniaque, la *lamelle moyenne* (substance intercellulaire) se colore en jaune [1].

Enfin l'ammoniaque est encore employée dans la préparation de l'oxyde de cuivre ammoniacal et du carminate d'ammoniaque [2].

On pourrait peut-être aussi recommander l'ammoniaque pour ramollir les matériaux des herbiers que l'on veut soumettre à l'examen microscopique ; ainsi les algues, les mousses, les grains de pollen, les spores desséchées, etc., de même que les plantes supérieures, sont traitées avec avantage par ce liquide.

5. Solution cupro-ammoniacale.

Ce réactif, si important dans la technique du microscope, doit être récemment préparé lorsqu'on veut l'employer, car il s'altère à la longue ; si l'on

1. Dippel, *Mikr.*, II, p. 100.
2. Voy. l'article des matières colorantes.

veut le conserver quelque temps, il faut le tenir à l'obscurité.

Pour le préparer, on fait dissoudre 10 grammes de sulfate de cuivre dans 100 grammes d'eau distillée ; on précipite ensuite l'oxyde de cuivre hydraté en versant dans cette dissolution une solution de potasse à 10 0/0 ; le précipité est lavé et dissout dans 20 grammes de solution aqueuse d'ammoniaque au 20 0/0, à laquelle il communique une magnifique couleur bleu foncé.

On peut encore le préparer, en versant de l'eau ammoniacale au 16 0/0 sur de la tournure de cuivre et laissant séjourner le produit dans un récipient ouvert. Que la solution cupro-ammoniacale soit préparée par l'un ou l'autre de ces deux procédés, elle ne doit être employée qu'autant qu'elle conserve la propriété de dissoudre *rapidement* le coton.

La *cellulose pure* s'y dissout en gonflant fortement, mais sans se transformer en « amyloïde ». Les membranes cellulaires incrustées de lignin, de subérine, etc., ne se dissolvent que lorsque ces dernières substances ont été éliminées par la macération de *Schultze*.

La lamelle moyenne ou substance intercellullaire n'est en général pas soluble dans ce réactif ; il en est de même de la cuticule.

D'après *Kabsch*, la solution cupro-ammoniacale est un réactif de la *pectose;* si l'on traite un tissu cellulaire, contenant cette matière, par le réactif en question, on obtient un squelette délicat de pectinate de cuivre [1].

Les couches concentriques des sphéro-cristaux d'*inuline* se montrent très nettes quand on les traite par la solution cupro-ammoniacale [2].

ACIDES INORGANIQUES

6. Acide sulfurique (H^2SO^4).

Cet acide est employé suivant les circonstances à l'état concentré ou étendu; dans ce dernier cas, la proportion la plus convenable est 1 volume d'acide pour 3 volumes d'eau [3].

L'acide sulfurique étendu fait gonfler les grains d'amidon et exerce une action semblable sur les

1. Schweitzer, *l. c.* (a découvert cette réaction). — Kabsch, *Prings*, *Jahrb.*, III, p.357. — Hofmeister, *l. c.*, p. 240. — Dippel. *Mikr.*, I, p. 280. — Wiesner, *Tech. Mikr.*, p. 38. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 474. — Frémy, *l. c.* — Epstein, *l. c.*

2. Prantl, *l. c.*, p. 10. — Ce réactif est meilleur que l'acide nitrique (V. A. P.)

3. Dippel, *Mikr.*, I, p. 276. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 474. — Weiss, *Allg. Bot.*, p. 62 et d'autres passages. — Hofmeister, *l. c*, p. 252 et divers autres paragraphes.

membranes cellulosiques, surtout dans les masses de tissu collenchymateux; la cellulose est transformée ainsi en une substance isomère, l' « amyloïde », qui, contrairement à la cellulose pure, se colore en bleu par les solutions d'iode. Pour voir si une membrane est formée de cellulose pure, on la traitera d'abord par l'acide sulfurique et puis par une solution d'iode; elle devra se colorer en bleu, mais d'une nuance différente de celle que produit le chlorure de zinc iodé.

L'acide sulfurique dissout rapidement toutes les membranes cellulaires et les grains d'amidon, en amenant un gonflement de toutes les parties avec lesquelles il est au contact; l'amidon se transforme ainsi en dextrine.

Les parties cuticularisées des membranes cellulaires résistent à l'acide (cellules subéreuses, cuticule[1], exine, gaine des racines); il en est de même de la lamelle moyenne citée plus haut. Le protoplasma est également détruit par une action prolongée; les jeunes corps protoplasmiques se colorent souvent en rose par l'action de l'acide seul[2]; mais, si on les laisse s'imbiber d'une solution de sucre de canne, la coloration se produit

1. De Bary, *Vergl. Anat.*, p. 84, 131. — Brongniart, *l. c.*, p. 427.
2. Sachs, *Keim. d. Dattel* (*Bot. Ztg.* 1862, p. 242).

plus facilement. Les globules d'huile qui se trouvent dans le protoplasma ne sont pas dissous, mais se réunissent en gouttes réfringentes [1]. Il en est de même de l'huile qui se trouve intimement mélangée à la masse protoplasmique.

7. Acide nitrique (HNO^3).

Cet acide est employé (p. sp. = 1,178 = 25 0/0) pour les macérations concurremment avec le chlorate de potasse [2] (voir ce dernier).

Un contenu cellulaire, traité par l'acide nitrique seul ou par cet acide d'abord et ensuite par l'ammoniaque, se colorera en beau jaune d'acide xanthoprotéique s'il contient de la matière protéique.

Comme réactif de la *subérine* [3], on emploie, d'après *Höhnel*, soit de l'acide nitrique concentré pur, soit un mélange de cet acide et de chlorate de potasse. Pour obtenir cette *réaction de l'acide cérinique*, comme on l'appelle, on fait bouillir des sections très minces avec les substances précédentes; s'il y a de la subérine dans les tissus, après dissolution des autres parties des membranes, le résidu contenant cette substance, devenu jaune, forme des masses globuleuses, qui sont granuleuses au

1. Sachs, *Keim. d. Gräser* (*Bot. Ztg.*, 1862. p. 146).
2. Dippel, *Mikr.*, I, p. 275. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 474. — Sanio, *Bot. Ztg.*, 1863, p. 362, Anm.
3. Höhnel, *l. c.*

début, mais deviennent homogènes plus tard. Ces masses, constituées par de l'acide cérinique, sont solubles dans l'alcool, l'éther, la benzine et le chloroforme.

La *lamelle moyenne* ou substance intercellulaire se colore en jaune si on la traite par l'acide nitrique chaud et puis par l'ammoniaque [1].

L'acide nitrique fait gonfler et dissout les grains d'amidon; aussi peut-il être employé avantageusement, surtout s'il est dilué, pour éclaircir un grand nombre de tissus gorgés d'amidon.

Quand on veut faire des préparations de Diatomées, on les fait bouillir dans l'acide nitrique étendu. Après destruction de la partie organique et dissolution de tout ce qui n'est pas silice, on obtient les carapaces nettes et isolées. On filtre le liquide et on lave à l'eau distillée le résidu qui contiendra les carapaces des Diatomées.

8. Acide chromique (H^2CrO^4).

On emploie cet acide étendu (2 0/0) [2] pour durcir le protoplasma) ou concentré (50 0/0); il faut qu'il soit exempt d'acide sulfurique. Comme le liquide dépose facilement des cristaux dans le col du

1. Dippel, *Mikr.*, II, p. 100.
2. Dippel, *Struct. d. Zellh.* — Sanio *Bot. Ztg.*, 1860-63. — Kabsch, *Prings. Jahrb.*, III, p. 389. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 475.

flacon, il est bon de déboucher souvent ou d'enduire les bouchons avec de la vaseline.

L'acide chromique fait gonfler les membranes cellulosiques et les dissout. La solution étendue est le meilleur réactif pour reconnaître la stratification des membranes, parce que le gonflement procède lentement. Seules les couches silicifiées et subérifiées [1] des membranes restent inaltérées; celles qui contiennent du *lignin* se dissolvent complètement. Les membranes contenant de la *subérine* deviennent si claires dans l'acide chromique qu'on ne les aperçoit presque plus; mais, en enlevant l'acide par des lavages, elles redeviennent visibles; ce n'est qu'après une action *prolongée* qu'elles se dissolvent.

L'acide chromique est d'une façon générale le meilleur auxiliaire dans l'étude histologique des couches de l'amidon, des membranes, etc. On peut aussi l'employer dans beaucoup de cas pour fixer le protoplasma, mais seulement en solution très étendue.

9. Acide osmique (H^2OsO^4).

Cet acide, d'odeur très désagréable [2], doit être

1. Höhnel (*l. c.*) est ici en contradiction avec Pollender : *Chromsaure als Lösungsmittel für Pollenin u. Cutin.* (*Bot. Ztg.*, 1862, p. 385.)

2. Dippel, *Mikr.*, I, p. 375. — trasburger, *Befr. u. Zellk.* —

conservé à l'état cristallisé et dissout lorsqu'on veut s'en servir; la solution aqueuse doit être tenue à l'obscurité. Ce réactif a été très usité surtout dans ces derniers temps, pour étudier les détails de structure du protoplasma. Comme les vapeurs de cet acide attaquent fortement les muqueuses du nez et des yeux, surtout quand on manie une solution très concentrée, on a, pour obvier à ces inconvénients, recommandé l'emploi de l'amide osmique ($2NH^3$, OsO^2, H^2) qui d'ailleurs agit absolument comme l'acide.

Les *huiles* et les *graisses* réduisent l'acide osmique. Il se sépare de l'osmium métallique, et les gouttelettes d'huile sont colorées en brun ou même en noir.

Une réaction du même genre peut indiquer la présence du tannin.

Pour *durcir* instantanément le protoplasma vivant, une solution très étendue, à 1 0/0, convient parfaitement.

Les phases de segmentation du noyau et d'autres conditions de structure du corps protoplasmique sont par ce moyen fixées en peu de minutes, et les préparations, après avoir été lavées, peuvent être

Stud. üb. Protop., 1876. — Pfister, *l. c.*, p. 33. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 476. — Ranvier, *Histologie*, 1875, p. 55. — Robin, *Microsc.*, 1877, p. 220. — Elfving, *Pollenbodies of Angiosperms* (*Quart. Journ. of. micr. Sc.*, v. XX, 1880, p. 20).

conservées dans la glycérine. Toutefois elles deviennent ainsi très transparentes.

Tout récemment, l'acide osmique a été recommandé pour la préparation des jeunes tissus de méristème [1]. Les organes destinés à l'étude sont plongés dans une solution aqueuse très étendue (1 0/0 à 1,10 0/0) jusqu'à ce qu'ils soient devenus noirs; puis on les traite par de l'alcool, on les éclaircit par l'essence de girofle et on les englobe dans du *beurre de cacao* pour en faire des coupes. Les préparations à conserver sont placées dans le baume du Canada.

Un mélange de 9 parties d'une solution d'acide chromique à 25 0/0 avec une partie de solution d'acide osmique à 1 0/0 a également donné de bons résultats.

On obtient très vite par cette méthode à la fois la coloration et le durcissement; les bourgeons terminaux de *Chara* ont servi pour l'essai de ce procédé.

10. Acide phosphorique (H^3PO^4).

Ses applications pour ramollir les tissus sont peu importantes. Il fait gonfler les cristalloïdes [2].

1. Parker. *On some applications of Osmic acid.* (*Journ. of the roy. micr. Soc.*, vol. II, 1879, p. 382). — Je n'ai pas essayé cette méthode (V. A. P.).
2. Hofmeister, *l. c.*, divers passages. — Kraus, *Krystalloïde Prings. Jahrb.* VIII.

11. Acide chlorhydrique (HCl).

De même que les autres acides forts, celui-ci a le pouvoir de faire gonfler l'amidon et les membranes cellulaires jeunes, surtout lorsqu'il est concentré [1]. Dans l'emploi de cet acide, comme des autres, il faut se servir de couvre-objets très grands pour garantir les objectifs.

Nous avons déjà parlé de son usage dans la méthode d'éclaircissement des tissus de *Hanstein*, à l'article *Hydrate de potasse* (p. 12), et nous verrons plus loin qu'il sert également dans une des réactions de la substance ligneuse. *Kabsch* [2] l'a employé avec l'acide sulfurique et la potasse concentrés pour isoler la couche tertiaire d'épaississement des cellules ligneuses; les sections sont traitées séparément par chacun des réactifs et lavées chaque fois.

Un long séjour dans cet acide donne aux substances azotées (matières protéiques) une couleur violette. L'acide chlorhydrique a de plus été appliqué avec succès à la recherche des *noyaux cellulaires* des Diatomées, etc. [3]

Un cristal traité par l'acide chlorhydrique fera effervescence, s'il contient de l'acide carbonique,

1. Dippel. *Mikr.*, I, p. 276, et II, p. 41. — Höhnel, l. c., 21.
2. *Prings. Jahrb. III.*
3. Pfister, *l. c.*, p. 31.

parce que le gaz se dégage et qu'il se forme des chlorures. Si au contraire le cristal en question est formé d'acide oxalique, il se dissoudra sans dégagement de gaz.

Dans ces derniers temps *Pringsheim* (*Monatsber. d. Berl. Akad.*, nov. 1879) a fait usage de l'acide chlorhydrique pour reconnaître l'*hypochlorine*, l'un des principes de la chlorophylle (voy. *Chlorophylle*), découvert par ce botaniste. Les coupes fraîches sont placées dans l'acide et doivent y demeurer plusieurs heures ; l'hypochlorine se présente alors à l'état de petites exsudations brunâtres ou couleur de rouille, semi-fluides, de forme à peu près sphérique, qui au bout d'un certain temps cristallisent en cristaux aciculaires plus ou moins nets.

ACIDES ORGANIQUES

12. Acide acétique ($C^2H^4O^2$).

On emploie cet acide [1] tel que le commerce le fournit (25 0/0; p. sp. = 1,0399), comme auxiliaire dans différents travaux micrographiques :

1. Dippel, *Mikr.*, I, p. 277, et II, p. 10. — Näg. u. Schw., *l. c.*, 476. — Hanstein, *Scheitelzellg.*, 1868. — *Entw. d. Keimes Bot. Abhdl.*, p. 5. — Strasburger, *Stud. b. Protop.*, 1876, p. 5.

ainsi il sert au lieu d'acide chlorhydrique, dans la méthode de *Hanstein*, pour éclaircir les méristèmes opaques (voir à l'art. *Hydrate de potasse*, p. 12). Les coupes sont d'abord lavées à l'eau distillée, puis placées dans une goutte d'acide acétique sur le porte-objet; si l'on neutralise par la potasse, elles deviennent souvent un peu opaques, mais recouvrent parfois un degré de transparence plus grand lorsqu'on les place dans la glycérine. Dans l'étude des cristaux, l'acide acétique indique la présence de l'*acide oxalique,* si les cristaux ne s'y dissolvent pas, mais se dissolvent dans l'acide chlorhydrique (p. 26); les carbonates se dissolvent avec un dégagement de gaz, qui indique leur présence, soit qu'ils existent en cristaux, soit qu'ils incrustent les membranes cellulaires.

L'acide acétique fait apparaître nettement les noyaux cellulaires, et souvent c'est un bon réactif pour l'étude des détails de structure du protoplasma. *Strasburger* [1] recommande une solution aqueuse à 1 0/0 pour fixer les noyaux qu'on veut colorer par le vert d'aniline. En même temps, l'acide acétique éclaircit souvent les corps protoplasmiques et amène le gonflement de leur couche externe.

1. *Zellb. u. Zellth.*, III Aufl., 1880.

Enfin, ajouté à une solution de cochenille et à de la glycérine, cet acide a encore été employé dans le cas où l'on désire conserver des préparations de noyaux cellulaires colorés au carmin.

13. Acide oxalique ($C^2H^2O^4$).

On l'emploie en solution aqueuse [1], concurremment avec certaines matières colorantes, pour colorer les tissus; la solution alcoolique fournit un bon moyen d'enlever la couleur des préparations trop fortement colorées.

On s'en sert également en solution aqueuse concentrée pour reconnaître la pectose; après que les coupes ont été traitées par la potasse, la pectose se dissout dans l'acide oxalique.

14. Acide phénique (acide carbolique, phénol) (C^6H^6O).

L'acide phénique n'a que peu d'importance comme réactif microchimique [2]. Les membranes qui, après traitement par l'acide phénique, prennent une coloration jaune verdâtre ou vert bleuâtre, lorsqu'on les humecte avec l'acide chlorhydrique, sont considérées comme lignifiées. Le phénol serait donc un réactif du lignin (?).

1. Dippel, *Mikr.*, I, p. 285. — Frey, *l. c.*, p. 77. — Bachmann, *l. c.*, p. 27. — Wiesner, *Tech. Mikr.*, p. 247 et 258.
2. Höhnel. *Histoch. Unters* (V. aussi *Bot. Ztg.* 1877, p. 786).

Leitgeb [1] a recommandé une solution de phénol dans l'alcool comme agent clarifiant dans les recherches histogénétiques sur les mousses.

Barnard [2] recommande pour éclaircir les préparations microscopiques l'acide phénique chimiquement pur et aussi concentré que possible.

Les tissus traités par l'acide phénique doivent être placés directement dans le baume du Canada, de même que ceux qui ont été traités préalablement par macération dans l'essence de térébenthine.

L'acide phénique doit être ajouté en petite quantité au mélange de ***gélatine et glycérine*** (p. 72) afin d'empêcher la formation de moisissures; en solution étendue, il peut servir pour conserver les bactéries (*Warming*); celles-ci s'y maintiennent bien, mais leur contenu prend un aspect clair et homogène.

15. Alcool (C^2H^6O).

Le pouvoir désinfectant bien connu de l'alcool [3]

1. Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 476.
2. Barnard (F.,) *Carbolic acid for mounting* (*Science Gossis*, 1880, p. 137). — *Bot. Centralb.*, 1880, p. 1180.
3. Dippel, *Mikr.*, I, p. 282. — De Bary, *Verg. Anat.*, p. 86. — Näg. u. Schw , *l. c.*, p. 476. — Sachs, *Ueb. d. Sphærokryst.*, *etc.* (*Bot. Ztg.*, 1864.) — Weiss, *Allg., Bot.*, p. 182, 186. — Tangl, *l. c.* — Strasburger, *Zellb. u. Zellth.* — *Befr. u. Zellth.*, p. 38.

dépend de son action délétère sur le protoplasma: de là son emploi pour la conservation des organes des végétaux et des animaux. L'alcool absolu partage avec l'acide osmique la propriété de coaguler le protoplasma; il est par suite très utile dans l'étude des détails de structure du protoplasma, des segmentations du noyau, etc. Sa propriété déshydratante fait que les corps protoplasmiques se retirent des parois cellulaires et montrent ainsi nettement leur couche périphérique; nous devons également à cette propriété l'usage qu'on fait de l'alcool pour durcir de grandes masses de tissu qui à l'état frais ne se laissent sectionner que très difficilement par le rasoir. On peut encore se servir utilement de l'alcool pour chasser l'air des espaces intercellulaires d'une préparation, car il pénètre plus facilement que l'eau dans les capillaires fins; dans les cas plus difficiles, il suffit en général de chauffer la préparation en remplaçant l'alcool à mesure qu'il s'évapore; si même cette méthode ne réussit pas, il faut avoir recours à la machine pneumatique.

L'alcool est un dissolvant des huiles éthérées et des résines. Au contraire, les huiles grasses et la cire végétale sont insolubles dans l'alcool froid, mais les gouttelettes d'huile se rassemblent en gouttes plus grosses.

Dans les tissus contenant beaucoup de *saccharose*, par exemple les nectaires, cette substance peut être amenée par l'action de l'alcool *absolu* à cristalliser en petits cristaux étoilés solubles dans l'eau [1]. Dans les tissus de tous les organes végétaux renfermant de l'*inuline*, l'action prolongée de l'alcool provoque la précipitation de l'inuline dans les cellules sous forme de masses sphéro-cristallines. Il en est ainsi chez *Inula*, *Helianthus*, *Dahlia*; d'autres substances cristallisent en sphéro-cristaux de la même manière, par exemple l'*hespéridine* [2], etc. (Voy. *Inuline* et *Hespéridine*.)

L'*asparagine* peut être également reconnue par l'alcool absolu. On traite les coupes, qu'on veut examiner, à plusieurs reprises par ce liquide, en les laissant dessécher chaque fois; les cristaux d'asparagine [3] se séparent alors souvent en même temps que d'autres substances cristallisables; on reconnaît les premiers à leur insolubilité dans une solution chaude d'asparagine. Le même procédé est probablement applicable à d'autres substances; pour la *tyrosine*, cela est déjà prouvé.

1. Bonnier, *l. c.*, pl. 8, fig. 124, 126.
2. Prantl, *l. c.* — Rosenvinge, *l. c.* (voir la bibliographie dans ce travail). — Pfeffer, *in Sachs Lehrb.*, 1874, p. 65. — Russow, *l. c.*, p. 110.
3. Hartig, *Entw. d. Pflanzenk.* — Pfeffer, *Ann. des sc. na* *Ve série*, t. XIX, p. 391. — Sachs, *Lehrb.*, p. 689. — Borod *l. c.* — Detmer, *l. c.*, p. 171.

L'alcool est de plus employé souvent comme dissolvant d'un certain nombre de réactifs microchimiques (p. sp. = 0,812), tels que les couleurs d'aniline, le sublimé corrosif, la phloroglucine, l'iode, etc.; il sert également pour déshydrater les préparations qui doivent être conservées dans les huiles volatiles ou le baume du Canada.

16. Glycérine ($C^3H^8O^3$).

La glycérine [1] est d'un emploi très répandu comme liquide conservateur des préparations; pour cet usage, je recommande particulièrement la glycérine à peu près anhydre, dite *de Wilson*. On l'emploie également étendue de bien des manières. On dilue suivant les besoins avec de l'eau ou de l'alcool ou encore avec ces deux liquides à la fois; pour la conservation provisoire des objets, on peut recommander un mélange, à volumes égaux, de glycérine, eau distillée et alcool absolu.

Comme agent *déshydratant*, on emploie la glycérine comme l'alcool dans l'étude du protoplasma; elle peut rendre dans beaucoup de cas de grands services comme moyen *clarifiant*, par exemple

1. Kraus, *Das Inulin Vork.*, *etc.* — Sachs, *Ueb. d. Sphærokr.*, *etc.* — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 475. — Hegelmaier, *Entw. dikot. Keime*, p. 11.

dans l'étude histologique des faisceaux fibro-vasculaires; comme liquide à la fois conservateur et clarifiant dans les méthodes de *Hanstein* et de *Russow* pour l'éclaircissement des tissus; un mélange de solution diluée de potasse et de glycérine a été employé par *Hegelmaier* dans ses études sur la germination.

Strasburger recommande un mélange à parties égales d'alcool absolu et de glycérine concentrée pour la préparation des ovules durcis dans l'alcool absolu [1].

Kraus a recommandé la glycérine comme réactif du *sucre* et de l'*inuline*. Si l'on place en effet dans de la glycérine des coupes qu'on suppose contenir les substances précédentes en dissolution, il se forme dans les cellules des gouttelettes arrondies fortement réfringentes. Si nous avons affaire à de l'inuline, ces gouttelettes donnent les sphéro-cristaux caractéristiques que nous connaissons déjà et qui se conservent; mais, si le tissu ne renferme que du sucre, elles se redissolvent presque aussitôt. Il faut que les coupes n'aient pas été préalablement humectées, mais placées directement dans la glycérine. La valeur de cette réaction n'est pas démontrée suffisamment.

1. Strasburger, *Angiosp. u. Gymnosp.* 1879, p. 1-2.

Dans les grandes masses de tissus, la glycérine peut également servir à précipiter l'inuline, comme aussi à conserver des préparations de cette substance.

Pour l'étude des granules protéiques, on recommande la *glycérine iodée*. On la prépare en dissolvant un peu d'iode dans de la glycérine qui tient déjà en dissolution un peu d'iodure de potassium; l'indication précise des proportions est absolument superflue.

On emploie dans le même but la *glycérine chaude*, dans laquelle le contenu des granules protéiques, qui à l'état naturel ont un pouvoir réfringent uniforme, devient distinct; et l'on peut alors y voir des globoïdes et des cristalloïdes.

Comme l'évaporation de la glycérine est à peu près négligeable, cette substance est un des meilleurs liquides conservateurs pour les préparations; mais, comme la glycérine anhydre absorbe l'humidité de l'air, il faut que le couvre-objet soit luté hermétiquement.

17. Ether ($C^4H^{10}O$), **Benzine** (C^6H^6), **Chloroforme** ($CHCl^3$), **Sulfure de carbone** (CS^2), **Huiles éthérées** [1].

1. Weiss, *Allg. Bot.*, p. 178. — De Bary, *Vergl. Anat*. p. 86. — H. de Vries, *l. c.*, p. 468. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 476. — Dippel, *Mikr.*, I, p. 374. — Wiesner, *Tech. Mikr.*, p. 81. —

Pour reconnaître les matières grasses, les huiles volatiles, les résines et autres corps analogues on a introduit en microchimie l'usage de quelques substances chimiquement différentes, qui, grâce à leurs propriétés dissolvantes, nous permettent de reconnaître les corps ci-dessus mentionnés qui existent fréquemment dans les tissus. On se sert pour cela de l'éther, du chloroforme, de l'alcool, de la benzine, de l'essence de térébenthine et du sulfure de carbone.

Les *substances résineuses* sont solubles dans 'éther, l'alcool absolu *froid*, le sulfure de carbonel et l'essence de térébenthine.

Les *huiles grasses* sont solubles dans le sulfure de carbone, les huiles éthérées, l'alcool *bouillant* et l'éther; une solution concentrée d'hydrate de potasse les saponifie, et les sels d'acides gras ainsi formés sont solubles dans l'eau.

Les *huiles éthérées* sont facilement solubles dans l'essence de térébenthine et l'alcool absolu *froid;* la plupart le sont aussi dans l'éther et le sulfure de carbone [1].

A l'aide de l'alcool seul on pourra donc déjà

Pour le sulfure de carbone comme réactif du soufre, voir l'article « soufre » dans la deuxième partie.

1. Dippel (*Mikr.,* I, p. 374) dit qu'elles sont insolubles dans l'éther, ce que je ne conçois pas (V. A. P.)

distinguer les huiles grasses des huiles éthérées. Quant aux résines, il faut employer d'autres réactions dont nous parlerons plus loin.

Les substances qui dissolvent les huiles grasses peuvent aussi servir comme réactifs de la cire.

En ce qui concerne l'emploi des réactifs précédents, nous devons seulement faire observer que le sulfure de carbone, l'éther, l'essence de térébenthine et la benzine étant insolubles dans l'eau, les coupes devront être placées directement dans un de ces liquides; on ne doit pas, comme l'on fait pour tant d'autres réactifs, placer la préparation dans l'eau et faire arriver le réactif jusqu'à la coupe sous le couvre-objet. Le meilleur mode opératoire consiste à traiter les coupes par de grandes quantités de réactif, dans un verre de montre.

Différentes ***huiles éthérées***, autres que l'essence de térébenthine déjà mentionnée, trouvent des applications dans la microchimie. L'*essence de girofle* et l'*essence de citron* sont surtout à employer comme agents clarifiants dans l'étude des grains de pollen. Elles conviennent en outre comme liquides additionnels pour les objets qui ne peuvent être examinés dans l'eau, parce qu'ils exigent l'emploi d'une substance ayant un indice de réfraction différent : comme ces essences diminuent la réfrac-

tion, elles rendent service dans l'examen de beaucoup de substances fortement réfringentes, par exemple les cristaux, dans la lumière polarisée. Les préparations qui ont séjourné dans l'huile doivent être lavées à l'éther ou au chloroforme et puis à l'alcool avant de pouvoir être placées dans l'eau ou la glycérine.

SELS INORGANIQUES

18. Chlorure de sodium ($NaCl$).

La solution aqueuse, faible (0,5 0/0) de chlorure de sodium [1] s'emploie pour contracter le corps protoplasmique. Ce phénomène de contraction est dû à la propriété déshydratante de ce réactif. Beaucoup d'autres solutions salines ont la même action. Une solution diluée de chlorure de sodium dissout (au moins dans les embryons de Bertholletia) les cristalloïdes. (Weyl, *Zeitschr. f. phys. Chemie*, I Bd., p. 90).

19. Chlorure de calcium ($CaCl^2$).

Cette substance est employée en solution

1. Dippel, *Mikr.*, I, p. 279

aqueuse [1] (2 à 3 p. d'eau pour 1 p. de sel), pour la conservation des préparations, excepté pour celles d'amidon; toutefois la glycérine l'a remplacée dans la plupart des cas. Dans ces dernières années, le chlorure de calcium a été appliqué à l'éclaircissement des tissus. Les coupes à étudier sont placées dans quelques gouttes d'eau et recouvertes de chlorure de calcium sec, pulvérisé; on chauffe au-dessus d'une flamme faible jusqu'à ce que la masse soit presque desséchée, et l'on ajoute de nouveau quelques gouttes d'eau; on retire ensuite les coupes pour les placer dans la glycérine, où elles prennent en quelques heures une transparence satisfaisante [2].

20. Chlorure de mercure ($HgCl^2$. — Sublimé).

Une solution aqueuse très étendue (1 0/0) de ce composé est employée pour rendre plus nets les courants très fins de protoplasma [3].

En solution alcoolique au 2 p. 100, le sublimé a été introduit dans la microchimie par *Pfeffer* [4] pour l'étude des granules protéiques; il forme avec les

1. Schacht, *Mikr.*, p. 28.
2. Méthode de Treub : *Mérist. prim. de la racine.* — Eriksson, *l. c.*, p. 10. — Flahaut, *l. c.*, p. 24.
3. Dippel, *Mikr.*, I, p. 281.
4. Pfeffer, *Proteinkörner*, *l. c.*, p. 491. — Weiss, *Allg. Bot.*, p. 140. Anm. — Sachs, *Lehrb.*., p. 55 — Duchartre, *Elém. de bot.*, p. 102.

matières protéiques une combinaison insoluble dans l'eau. Les préparations doivent séjourner au moins douze heures dans le liquide.

Le professeur *Pacini* [1] propose des liquides conservateurs ayant pour base le chlorure mercurique. Pour les éléments histologiques solides et non albumineux, il recommande une solution de 1 partie de sublimé dans 200 parties d'eau distillée; pour les autres éléments, on ajoute à la solution 2 parties de chlorure de sodium. Dans quelques cas, par exemple quand on veut conserver la couleur rouge de l'*Hœmatococcus*, il est préférable d'employer une solution de 1 partie de chlorure mercurique et deux parties d'acide acétique dans 300 parties d'eau.

21. Chlorure ferrique (Fe^2Cl^6).

En solution aqueuse (20 0/0; p. sp. 1,104) cette substance peut servir comme réactif du *tannin* [2], quand il n'est pas en trop faible quantité. Les cellules à tannin doivent être placées directement

1. Pacini (F.), *Di alcuni methodi di preparazione e conservazione degli elementi microscopici dei tessuti animali e vegetali.* Napoli, 1880. (Estratto dal *Giorn. internaz. delle scienze mediche,* nuova serie, anno II.) (Voy. aussi *Nuovo giorn. bot. it. vol.,* vol. XIII, n° 2.)

2. Karsten, *l. c.* — Dippel, *Mikr.*, I, p. 375. — Wiesner, *Tech. Mikr.*, p. 83. — Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 181. — *Die Pflanzenhaare, l. c.* — Näg u. Schw., *l. c.*, p. 475.

dans le réactif et non traitées d'abord par l'eau, qui dissout facilement le tannin; elles prennent alors une couleur vert foncé ou noir bleuâtre, suivant la nature du tannin. Les cellules colorées en vert deviennent *jaunes* par la potasse.

La solution de ce composé ferrique ne doit pas être trop concentrée, car dans ce cas il arrive facilement qu'il en pénètre un excès dans les cellules; le tannate de fer précipité se redissout alors, et la réaction perd de son intensité. Aussi a-t-on substitué récemment au chlorure de fer l'acétate ou le sulfate du même métal, qui sont des réactifs bien plus sûrs et doivent par suite être absolument préférés.

22. Chlorate de potasse (KO^3Cl).

La solution aqueuse concentrée ou mieux les cristaux mêmes de chlorate de potasse sont employés concurremment avec l'acide nitrique pour dissoudre la lamelle moyenne (macération) et isoler les cellules, ce qui a surtout de l'importance dans les recherches sur les organes lignifiés [1].

Le mélange, appelé ***liquide de Schultze pour la macération***, est bouilli pendant quelques minutes

1. Sanio, *Bot. Ztg*. 1863, p. 362. — *Anat. d. Kiefer*. — Höhnel, *l. c*. — Schacht, *Mikr*., p. 27. — *Anat. u. Phys. der Gew*., I, p. 14 — Dippel, *Mikr*., II, p. 101. — Näg. u. Schw., *l. c*, p. 474.

avec de petits fragments du tissu à étudier; après un lavage soigneux à l'alcool, les tissus ainsi macérés peuvent se conserver dans la glycérine. L'opération ne doit pas être faite dans le voisinage du microscope, dont les parties métalliques seraient attaquées par les gaz qui se dégagent.

Le mélange pour macération de *Schultze* est encore employé comme réactif de la ***subérine***. On y fait bouillir longtemps et fortement de fines coupes; toutes les membranes, à l'exception de celles qui sont subérifiées, deviennent bientôt claires; ces dernières acquièrent des contours foncés, nets, et résistent plus longtemps à l'action du réactif; finalement, elles deviennent sinueuses, gonflent subitement et se résolvent en gouttelettes sphériques solubles dans l'éther, la benzine, le chloroforme, la potasse caustique et l'alcool bouillant; ces gouttelettes sont formées d'acide cérinique. Durant l'opération, une partie de la subérine a été dissoute par le réactif, l'autre portion seule a été transformée en acide cérinique. Aussi les membranes très peu subérifiées donneront difficilement cette réaction; pour pouvoir néanmoins dans ce cas reconnaître la subérine, les coupes sont traitées pendant quelques minutes par le liquide macératoire de *Schultze* à froid, puis transportées dans une solution de potasse. Les mem-

branes qui sont devenues très distinctes par le premier traitement prennent alors, quand on ajoute le second réactif, une couleur jaune d'ocre, surtout si l'on chauffe légèrement.

23. Sulfate de cuivre ($CuSO^4 + 5$ aq).

Cette substance a des applications très nombreuses en microchimie [1]; on l'emploie toujours en solution aqueuse moyennement concentrée (10 0/0); elle doit être chimiquement pure.

Comme réactif du *sucre*, ce sel est employé de la manière suivante (essai du sucre de Trommer) :

Une coupe, pas trop mince, du tissu à examiner, est immergée de deux à dix minutes dans une solution concentrée de sulfate de cuivre; la surface de section est ensuite rapidement lavée à l'eau distillée, puis la coupe est placée dans une solution bouillante formée de parties égales en poids d'eau et d'hydrate de potasse. Les cellules qui contiennent du sucre de canne (saccharose) se colorent alors en bleu clair, tandis que celles qui renferment du sucre de raisin (glucose) sont rendues opaques et troubles par un précipité finement gra-

1. Näg. u. Schw., p. 475 et 525. — Dippel, *Mikr.*, I, p. 372, et II, p. 20. — Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 77, 171 et 174. — Sachs, *Flora*, 1862, p. 289. — *Prings. Jahrb.*, III, p. 187. — H. de Vries *l. c.*, p. 468 — Wiesner, *Tech. Mikr.*, p. 79. — Frésénius, *l. c.* — Fehling, *l. c.*

nuleux ou floconneux, jaune rougeâtre, d'oxyde cuivreux. Par cet essai, nous avons en même temps appris quelle espèce de sucre se trouvait dans le tissu. Si l'on fait bouillir longtemps la dissolution bleue de sucre de canne avec de l'acide sulfurique ou nitrique dilués, il se forme du sucre de raisin, et la coloration rouge se manifeste.

Si dans l'opération le sulfate de cuivre a trop fortement pénétré dans les cellules, la réaction subséquente est souvent masquée par l'hydrate d'oxyde cuivrique qui se précipite. Pour éviter cet inconvénient, on peut se servir de la liqueur de *Fehling*, qui donne d'ailleurs la même réaction. On la prépare de la manière suivante : 4 grammes de sulfate de cuivre sont dissous dans 16 grammes d'eau distillée; d'autre part, 16 grammes de tartrate de potasse sont dissous dans le moins d'eau possible et additionnés d'une solution de 1 p. d'hydrate de soude dans 12 p. d'eau. Cette dernière solution est ensuite mélangée à la première. La liqueur doit être conservée à l'obscurité et souvent remplacée par une autre fraîchement préparée.

Le réactif de *Trommer* peut encore servir à reconnaître la *dextrine*. Le précipité formé dans les cellules est dans ce cas rouge cinabre; les petits granules présentent le mouvement moléculaire de

Brown. Si la dextrine est mélangée de composés protéiques, le précipité devient jaunâtre.

L'*arabine* (arabinate de chaux), la *cérasine* (métagummate de chaux) et la *bassorine* ne réduisent pas le réactif de *Trommer;* il se forme seulement un précipité bleu, abondant, dont les flocons se ramassent en pelotes quand on fait bouillir.

Les *composés protéiques* se reconnaissent par le même procédé. Le contenu cellulaire se colore en beau violet, mais seulement dans les cellules jeunes. Dans les cellules âgées, la réaction ne se produit pas.

Les membranes cellulaires qui ne sont pas lignifiées bleuissent légèrement par un long séjour dans une solution aqueuse de sulfate de cuivre.

24. Sulfate d'alumine et de potasse ($Al^2S^3O^{12}$, $K^2O^4 + 24$ aq). **Alun.**

La solution aqueuse de ce sel (6,66 0/0) [1] s'emploie tantôt en qualité de mordant dans divers procédés de coloration, de même que dans l'industrie, par exemple dans la solution d'hématoxyline de *Frey* et le carmin aluné de *Grenacher*, tantôt comme réactif déshydratant, et enfin, dans certains

1. Frey, *l. c.*, p. 93. — Bachmann, *l. c.*, p. 28. — Hanstein' *Scheitelzellgruppe*, 1868.

cas, dans la méthode de *Hanstein* pour éclaircir les tissus (voir p. 12).

25. Nitrate de potasse (KNO^3).

Est employé en solution aqueuse étendue (1/4 0/0) pour la culture des tissus cellulaires *vivants* des végétaux supérieurs dans l'observation de la segmentation des noyaux cellulaires [1].

26. Nitrate d'argent (AzO^3Ag).

Une solution aqueuse alcaline très diluée de nitrate d'argent a été employée comme réactif, pour ainsi dire, de la *vie du corps protoplasmique*, qui à l'état vivant contient de l'*aldéhyde*. D'après MM. *Lœw* et *Bokorny* [2], qui ont découvert cette réaction, on prépare le réactif de la manière suivante : 1° On fait une solution (dans l'eau distillée) de nitrate d'argent à 1 0/0 ; 2° on mélange 13 centimètres cubes de solution d'hydrate potassique (p. sp. = 1,333), 10 centimètres cubes d'ammoniaque caustique (p. sp. = 0,964) et 77 centimètres cubes d'eau distillée. Avant d'employer ces solutions, on les mélange à raison de 1 centimètre cube de chacune, et on dilue jusqu'à un litre. Il faut avoir soin de ne faire le mélange qu'au mo-

1. Treub, *Sur le rôle du noyau*, etc., p. 9.
2. Pflugers Archiv, XXV, 1881. — Pringsh. Jahrb., 1882.

ment de l'emploi, car différemment la lumière fait précipiter l'argent métallique.

Par ce réactif, le protoplasma vivant se colore en noir, tandis que le protoplasma mort demeure incolore. La réaction se produit même avec une solution de nitrate diluée à 1 : 1 000 000 [1].

L'*acide tannique* donne aussi une réaction; mais celle-ci cesse de se produire avec une solution même bien moins étendue (1 : 10 000).

Le *glucose* réagit également même avec une solution au 1 : 100 000; toutefois les cellules à glucose ne se colorent par en noir, mais en brun. Le nitrate d'argent très dilué (1 : 100 000) est donc un *excellent* réactif du glucose.

27. Nitrate mercuroso-mercurique (Sel de Millon).

Ce composé appelé réactif de *Millon* [2] se prépare comme il suit : 10 grammes de mercure sont dissous dans 25 grammes d'acide nitrique d'un p. sp. = 1,185 (25 0/0) à une température qui ne doit pas

1. Ces solutions extrêmement étendues (1 : 100 000 et 1 : 1000 000) ne doivent pas être employées comme le sont habituellement les réactifs microchimiques. Pour obtenir de bons résultats il faut, d'après Bokorny, plonger un *petit nombre* de cellules (p. ex. de *Spirogyra*) dans une *grande quantité* (1/2 à 1 litre) du réactif pendant 6 à 12 heures. — (Trad.)

2. Dippel, *Mikr.*, I, p. 281, et II, p. 18. — Näg. u. Schw., *l. c.* p. 475 et 527. — Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 77 et 144. — Millon, *l. c.*, — Radlkofer, *l. c.*

dépasser 50° C. Cette solution est mélangée à une autre contenant 10 grammes de mercure dans 22 grammes d'acide nitrique d'un p. sp. = 1,250 à 1,300 (30 à 40 0/0). On doit employer ce réactif aussi fraîchement préparé que possible.

Il fait gonfler les membranes cellulaires et rend leur striation plus évidente. Mais sa plus importante application est la reconnaissance des *composés protéiques*, qui se colorent en rose après y avoir séjourné quelque temps ou après avoir été chauffés légèrement.

La membrane protoplasmique ne se colore pas ou ne se colore que très légèrement.

Il faut toutefois ajouter que ses réactions ne se produisent pas toujours; le réactif est trop peu sensible (Nägeli).

28. Chlorure d'or ($AuCl^2$).

Une solution très étendue (1/2 0/0) de ce sel a été récemment employée en Amérique pour colorer les tissus des champignons. La durée de l'action doit être de une à six heures. Les préparations peuvent ensuite être conservées dans la glycérine détenue [1].

1. W. Hassloch, *New-York med. Journ.*, nov. 1878, et *Journ, of the roy. micr. Soc.*, vol II, 1879, p. 170. — Je ne connais pas ce réactif par expérience. (V. A. P.)

29. Nitroprussiate de soude (Na^2FeCy^5NO).

On peut l'employer en solution aqueuse [1] pour la reconnaissance du *soufre libre*. On ne prépare la solution qu'au moment de l'employer; les cristaux de ce sel doivent être conservés dans un vase hermétiquement fermé, car ils absorbent très rapidement l'humidité de l'air et tombent en déliquescence. On fait bouillir la préparation avec de la potasse caustique; les grains de soufre se ramassent en grandes masses jaunes qui se colorent en violet par le nitroprussiate de soude.

30. Ferrocyanure de potassium (K^4FeCy^6, Prussiate jaune).

Une solution aqueuse (5 0/0) de ce sel précipite, comme on sait, les sels de fer en bleu. On a utilisé cette réaction pour reconnaître l'hydrate de fer dans les membranes (par exemple *Crenothrix*) [2]. Les cellules, chez lesquelles la couleur brune des parois accuse déjà la combinaison ferrique incrustante, sont traitées par un mélange d'acide chlorhydrique et de solution de ferrocyanure potassique. Le magnifique bleu de Berlin qui apparaît alors vient confirmer la supposition que la couleur brune avait fait naître.

1. Cohn, *Bacterien*, *l. c.*, p. 175.
2. Cohn, *Brunnenfaden*, p. 119.

31. Sulfocyanate de potasse (KCyS).

La solution alcoolique est parfois employée concurremment avec l'acide chlorhydrique pour déceler le fer dans les membranes (voy. dans la seconde partie l'article *Fer*).

32. Bichromate de potasse ($K^2Cr^2O^7$).

La solution aqueuse (10 0/0) de ce sel [1] sert dans la recherche du tannin. De grandes masses de tissus sont immergées longtemps dans la solution; les cellules à tannin se colorent alors en rouge brun. Néanmoins les réactions des sels de fer sont préférables.

On l'emploie aussi pour durcir les tissus; les masses résineuses se solidifient dans ce réactif.

SELS ORGANIQUES

33. Acétate de fer.

S'emploie en solution aqueuse tout comme le chlorure ferrique (voir ce dernier).

1. Dippel, *Mikr.*, I, p. 280. — Sanio, *Bot. Ztg.*, 1863, p. 17. — Hanstein, *Bot. Ztg.*, 1868. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 475. — Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 187, Anm.

34. Acétate de potasse ($KC^2H^3O^2$).

Comme réactif, l'acétate de potasse n'a aucune application; mais il est très convenable pour conserver les préparations [1]. Le traitement des coupes est le même que lorsqu'on emploie la glycérine; la solution doit être à peu près concentrée; après l'application du couvre-objet, la préparation doit être abandonnée à elle-même environ ving-quatre heures avant d'être mastiquée. Ce liquide ne cristallise pas.

35. Acétate de cuivre.

Cette substance est recommandée pour reconnaître les *résines*. De grands fragments de tissu sont immergés pendant cinq ou six jours dans une solution aqueuse de ce sel, qui donne aux masses résineuses une couleur *vert émeraude* [2] (réaction des résines d'*Unverdorben*).

36. Sulfate d'aniline [$2(C^6H^5NH^2)SO^4H^2$].

Une solution aqueuse de cette substance (*réactif anilinique* de *Wiesner*) est employée pour la recherche du *lignin* ou substance ligneuse [3]. Les coupes sont d'abord placées dans une solution

1. Sanio, *Bot. Ztg.*, 1863, p. 359. — Dippel, *Mikr.*, I, p. 480.
2. Franchimont, *l. c.*
3. Wiesner, *Tech. Mikr.*, p. 64, et in Karsten's *Bot. Unters.*, II, p. 120, Anm. — Burgerstein, *l. c.* — Höhnel, *l. c.*

étendue de sulfate d'aniline jusqu'à ce qu'elles en soient bien imbibées; souvent déjà par ce traitement les membranes lignifiées se colorent légèrement en jaune, et cette coloration est considérablement accentuée si les coupes sont ensuite placées dans de l'acide sulfurique étendu. Le mélange de cet acide et du sulfate d'aniline peut être préparé d'avance.

Comme ce composé d'aniline ne se trouve dans le commerce qu'à un état très impur et par conséquent difficilement soluble, il convient mieux d'employer le réactif suivant.

37. Chlorhydrate d'aniline ($C^6H^5NH^2,HCl$).

En solution aqueuse, ce sel s'emploie de la même manière et dans le même but que le précédent [1]. L'acide auxiliaire sera dans ce cas l'acide chlorhydrique.

Les deux sels d'aniline en question peuvent être employés en solution alcoolique; la coloration des membranes lignifiées apparaît alors avec plus d'intensité.

1. Höhnel, *l. c.*

AUTRES COMPOSÉS ORGANIQUES

38. Solution de sucre de canne. Sirop de sucre. Les cellules végétales contenant beaucoup de sucre de canne sont souvent colorées en beau rouge par l'addition d'acide sulfurique concentré; on a utilisé ce fait dans une réaction des substances protoplasmiques (protéiques)[1].

Les tissus à examiner sont d'abord imbibés par une forte solution aqueuse de sucre de canne (9 part. de sucre pour 5 p. d'eau). En traitant ensuite par l'acide sulfurique, la couleur rouge apparaît.

Cette réaction, dite de *Raspail*, est souvent très difficile à obtenir et n'est pas des meilleures; les coupes doivent rester un certain temps dans l'acide avant que la couleur se manifeste.

En outre, des solutions aqueuses de sucre de canne de concentration diverse sont employées comme réactif déshydratant; une solution au 3 0/0

1. Raspail, *Chim. org.*, II, p. 139. — M. Schultze, *l. c.* (a découvert la réaction par une autre voie). — Schacht, *Mikr.*, p. 27. — *Pflanzenzelle*, p. 27, 28. — *Anat. u. Phys.* I, p. 46 et 61. — Dippel, *Mikr.*, I, p. 283. — Näg. u. Schw., *l. c.*, p. 476, 526. — Frey, *Mikr.*, p. 73. — Hofmeister, *Handb.*, I, p. 2. — Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 77. — Duchartre, *Elém.*, p. 25. — Strasburger, *Befr. u. Zellth.*, p. 16, 29, 52, etc.

est excellente pour préparer et étudier les ovules transparents (étude du sac embryonnaire par exemple de *Monotropa* et d'*Orchis*) ; une solution au 5 0/0 convient bien pour la culture du pollen sous le microscope.

39. Asparagine ($C^4H^8N^2O^3$).

Borodin la recommande en solution aqueuse tiède et concentrée comme réactif de l'asparagine (précipitée par l'alcool dans les tissus, voy. p. 31) ; une substance cristallisée, dans le cas présent l'asparagine, ne se dissout pas en effet dans une solution concentrée de la même substance [1]. L'asparagine cristallisée s'obtient en évaporant, après l'avoir filtré, un décocté de jeunes plantules de Légumineuses (surtout les *Lupins*) ayant germé à l'obscurité, ou encore en évaporant un décocté aqueux dialysé de racine d'*Althæa*.

40. Phloroglucine [$C^6H^3(OH)^3$].

Une des plus belles et des meilleures réactions microchimiques a été découverte tout récemment par Wiesner : nous voulons parler de la réaction de la phloroglucine sur le lignin. Pour l'obtenir, on emploie une solution aqueuse ou mieux alcoolique

1. Borodin, *l. c.*, p. 804. — Detmer, *l. c.*, p. 171.

de cette substance, qui même en quantité excessivement faible produit la réaction [1].

La coupe à étudier est d'abord traitée par l'acide chlorhydrique et ensuite placée dans une goutte de phloroglucine sur le porte-objet; les parties contenant du lignin prennent, suivant la concentration de la solution, plus ou moins vite une magnifique couleur rose intense. Si l'on a de la difficulté à se procurer de la phoroglucine pure, dont la préparation est actuellement coûteuse et difficile, on peut employer l'*extrait de bois de cerisier* étendu d'eau, qui renferme la même substance, mais donne une réaction plus violette (cette dernière a été appelée par *Höhnel*, qui la découvrit, *réaction de la Xylofiline*)

MATIÈRES COLORANTES

Pour la distinction des divers systèmes de tissus, de même que pour la reconnaissance de plusieurs substances différentes contenues dans les cellules, on a introduit dans ces derniers temps l'usage

1. Wiesner, *Das Verh d. Phloroglucins*, etc., *l. c.* — Höhnel, *Sitzungsanzeiger d. Wien. Akad.*, 1877, Nr. 23, p. 228, 229.

d'un certain nombre de matières colorantes. Nous ne mentionnerons ici que les plus importantes.

41. Teinture d'Alcanna [1].

C'est une substance colorante rouge qui se prépare en traitant par l'alcool la racine d'*Alcanna tinctoria*. On l'emploie surtout pour colorer les résines qui retiennent particulièrement cette matière colorante.

Les *corps gras* du contenu cellulaire sont colorés en rouge vif par ce réactif, qui peut servir entre autres dans l'étude des grains d'aleurone pour colorer la masse fondamentale grasse entre les grains. La teinture d'alcanna donne une couleur rouge pâle au protoplasma. Les préparations colorées à l'alcanna ne supportent pas la dessiccation.

42. Cochenille [2].

L'extrait aqueux de cochenille (0,5 0/0) additionné d'acide acétique ou d'alun s'emploie pour colorer les éléments mécaniques prosenchymateux du phloème *(cellules libériennes)* des faisceaux fibro-vasculaires; ces éléments, après avoir séjourné un certain temps dans le liquide colorant,

1. N.-J.-C. Müller, *Prings. Jahrb.*, V. *l. c.* — Hanstein, *Bot. Ztg.*, 1868, p. 707, 708.
2. Wigand, *Bot, Ztg.*, 1862, p. 129 et 139. — Maschke, *l. c.* — Vogl, *Anat. u. Histol. von Convolvulus arventis, l. c.*

se colorent fortement en rouge, tandis que les autres éléments ou ne réagissent pas ou se colorent à peine. Toutefois il y a certaines sortes de bois dont les tissus retiennent aussi l'extrait de cochenille; mais, en traitant ensuite par l'acide chlorhydrique ou sulfurique la coloration disparaît dans toutes les membranes, excepté celles des cellules libériennes en question, dans lesquelles elle devient même plus intense.

La cochenille a aussi été utilisée comme réactif colorant dans les recherches sur les granules protéiques.

43. Carmin ($C^{11}H^{12}O^{7}$).

Une solution de carmin dans la potasse diluée, telle qu'on peut se la procurer toute préparée dans le commerce, sert à colorer les *noyaux cellulaires* [1]. La solution, qui ne doit contenir qu'un faible résidu de carmin non dissous, est filtrée et mélangée à de l'eau, de l'alcool ou de la glycérine en diverses proportions. L'objet doit demeurer un certain temps dans la solution; les noyaux cellulaires seuls (et les grains protéiques) se colorent.

Le *carminate d'ammoniaque* [2] a des applications

1. Hartig, *Der Füllkern*, etc., *l. c.*, p. 282, Anm.
2. Dippel, *Mikr.*, I, p. 184. — Frey, *Mikr.*, p. 87, 88 et 90. — Bachmann, *l. c.*, p. 26. — Tangl, *l. c.*

plus nombreuses. On le prépare de la manière suivante, proposée par *Hartig:* On dissout jusqu'à saturation du carmin rouge ordinaire pulvérisé, dans une solution concentrée d'ammoniaque, et l'on évapore au bain-marie jusqu'à siccité. Le carminate d'ammoniaque ainsi préparé est dissous dans l'eau quand on veut s'en servir.

Un autre mode de préparation de ce réactif colorant a été proposé par *Thiersch :* On dissout 1 p. en poids de carmin dans 1 p. d'ammoniaque liquide concentrée et 3 p. d'eau dist. Cette solution est mélangée avec huit fois son volume de solution d'acide oxalique préparée en dissolvant une partie de cet acide dans 22 p. d'eau, puis additionnée de 12 vol. d'alcool absolu et ensuite filtrée. La liqueur filtrée doit se colorer en orangé par addition d'acide oxalique et devenir plus violette par l'ammoniaque. Si, par l'addition de l'ammoniaque, il se précipite de l'oxalate d'ammoniaque, on peut filtrer ou redissoudre le précipité à l'aide de quelques gouttes d'ammoniaque liquide.

Le *carmin aluné* de *Grenacher*, récemment introduit dans l'histologie par *Tangl* [1], se prépare, suivant ce dernier auteur, d'après le procédé suivant :

1. Tangl, *Ueb. offene Communication, etc.*, p. 170. — Grenacher, *Archiv. f. Mikr. Anatomie*, 1869, p. 465. — *Zeitschr. f. Mikroskopie*, II, Jahrg., 1879, p. 55

On dissout de l'alun dans l'eau jusqu'à saturation, on dissout ensuite dans cette solution une quantité *ad libitum* de carmin; on fait bouillir environ dix minutes, et l'on filtre après refroidissement. Par cette matière colorante, les membranes cellulosiques sont colorées en rouge intense, tandis que les membranes subérifiées ou lignifiées ne se colorent pas du tout. Les corps protoplasmiques et les noyaux cellulaires se colorent aussi très facilement et très fortement. Il est bon de durcir préalablement dans l'alcool absolu les organes végétaux qu'on doit sectionner, afin d'augmenter dans les membranes la capacité de retenir la matière colorante.

Si les préparations étaient colorées trop fortement par le séjour dans ces liqueurs carminées, elles peuvent être lavées dans une solution alcoolique d'acide oxalique.

Le carmin colore tous les *protoplasmas* qui y séjournent assez longtemps; les noyaux cellulaires surtout se colorent avec beaucoup d'intensité. Si le protoplasma est vivant, il ne retient la matière colorante que quand il a été tué par le contact avec cette dernière. En général, on peut dire que les matières albuminoïdes sont colorées par les couleurs organiques végétales, tandis que l'amidon et la cellulose ne se colorent pas ou seulement très faiblement.

Le *carmin de Beale*, qui est utilisé surtout pour la coloration des noyaux cellulaires, se prépare avec 0 gr. 6 de carmin qu'on dissout dans 2 grammes d'ammoniaque liquide bouillante; on abandonne pendant une heure pour laisser dégager une partie du gaz ammoniac, puis on ajoute au liquide 60 grammes d'eau distillée, 60 grammes de glycérine et 15 grammes d'alcool absolu; après avoir de nouveau laissé reposer, on filtre le liquide, qui peut alors servir [1].

Strasburger [2], dans l'étude des sacs embryonnaires, emploie pour colorer le protoplasma une *solution boracique de carmin*, aussi préparée : on dissout 4 parties de borax dans 56 parties d'eau distillée, on y ajoute une partie de carmin, et à un volume de cette solution on ajoute 2 volumes d'alcool absolu; on mêle et on filtre. Avec cette coloration, on facilite beaucoup l'étude des formes du nucléus. Les préparations se conservent dans la glycérine ou dans le mélange de gélatine et glycérine.

Czokor [3] recommande le liquide colorant suivant : 7 grammes de cochenille sont pulvérisés

1. Frey, *Mikr.*, p. 68.
2. *Zellb. u. Zelltb.*, 1880, p. 9.
3. Czokor, *Die Cochenille Carminlösung* (*Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XVIII, 1880, p. 412 et suiv.). Voy. aussi *Bot. Centralblatt*, 1880, p. 1280.

avec une égale quantité d'alun calciné. On y ajoute 700 grammes d'eau distillée, et l'on fait bouillir jusqu'à ce que la liqueur soit réduite à environ 400 grammes. Après refroidissement, on ajoute une goutte d'acide phénique et l'on filtre. La solution doit se conserver au moins pendant six mois environ sans altération. Ce temps écoulé, il faut la refiltrer et y ajouter de nouveau de l'acide phénique.

44. Picrocarminate d'ammoniaque (picrocarmin de *Ranvier*).

Cette matière colorante, usitée surtout en histologie animale, est employée en microchimie végétale principalement pour la coloration des nucléus[1]. On la prépare en ajoutant à une solution aqueuse concentrée d'acide picrique une forte solution de carminate d'ammoniaque jusqu'à neutralisation; après évaporation au 4/5 du volume primitif, on laisse reposer, on filtre et l'on obtient un liquide de couleur jaune rouge foncé[2]. Une autre méthode a été proposée par *Gage :* parties égales en poids

1. Treub, *Actes du cong. internat. à Amsterdam*, 1877, Leyde, 1879, p. 146.

2. Frey, *l. c.*, p. 91. — Bachmann, *l. c.*, p. 27. — Treub, *Rôle du noyau, etc.*, p. 23. — Pelletan, *l. c.*, p, 207. — Gage, *Journ. of the. roy. micr. Soc.*, 1880, vol. III, p. 401. — *American micr. Journ.*, 1880, p. 22.

d'acide picrique et de carmin sont dissous, le premier dans 100 d'eau, le second dans 50 parties d'ammoniaque liquide concentrée; ces solutions sont mélangées, filtrées, évaporées à siccité, et le résidu est dissous dans 100 parties (en poids) d'eau.

Weigert (*l. c.*, p. 275) recommande la méthode de préparation suivante : On mélange 2 grammes de carmin et 4 grammes d'ammoniaque; au bout de vingt-quatre heures, on ajoute à ce mélange 200 grammes d'acide picrique concentré et un peu d'acide acétique jusqu'à formation d'un précipité par agitation; on laisse reposer vingt-quatre heures, puis on filtre et l'on ajoute quelques gouttes d'ammoniaque jusqu'à ce que le liquide soit devenu clair.

Par ce liquide, le protoplasma est coloré en jaune rouge, les noyaux (du moins souvent) au contraire en rouge pur, surtout par une action peu prolongée. Cette liqueur rend les meilleurs services lorsqu'elle est diluée à 1 : 100.

Maupas [1] recommande pour la coloration des noyaux cellulaires le traitement par l'alcool, le picrocarmin et l'acide acétique cristallisable.

1. Sur quelques protorganismes animaux et végétaux multinucléés. *Comptes rendus*, 1879, 2e sem., t. LXXXIX, n° 4, p. 250.

45. Hématoxyline ($C^{16}H^{12}O^{6}$).

L'hématoxyline [1] est le principe actif de l'extrait de campêche, mais n'existe pas en grande quantité dans la teinture de bois de campêche. On la trouve dans le commerce, et le réactif colorant se prépare en dissolvant 0 gr. 35 d'hématoxyline dans 10 grammes d'eau à laquelle on ajoute quelques gouttes d'une solution d'alun (comme mordant pour fixer la couleur) faite avec 30 grammes d'eau distillée et 3 grammes d'alun. On obtient ainsi un liquide d'un beau violet qui colore les noyaux cellulaires en bleu foncé. C'est le meilleur réactif colorant que l'on connaisse actuellement pour ces derniers [2].

Les préparations doivent y séjourner un certain temps et peuvent ensuite être conservées dans la glycérine. — Je me suis servi très avantageusement de la méthode de coloration proposée par *Koch* pour l'étude des Bactéries. La préparation desséchée est traitée par une solution aqueuse concentrée d'extrait de bois de campêche; après avoir enlevé à l'aide d'eau distillée la matière colorante en excès, on fixe la couleur à l'aide de l'acide chromique étendu, et les préparations, de nouveau

1. Frey, *l. c.*, p. 91. — Pelletan, *l. c.*, p. 209. — Bachmann, *l. c.*, p. 28. — Schmitz, *Niederrhein-Gesellsch.*, nov. 1879.

2. Johow, *Zellkerne d. höheren Monocotylen. Diss.* Bonn, 1880, p. 9, Anm.

desséchées, peuvent alors être conservées dans la glycérine ou le baume du Canada. Les cils et le corps des cellules apparaissent de cette manière très nettement [1]. *Koch* a plus tard conseillé la coloration par l'hématoxyline; toutefois, d'après lui, les *Bactéries bacilliformes* n'admettent pas cette coloration [2]. Pourtant j'ai employé avec grand succès cette dernière coloration même pour certaines *Bactéries bacilliformes*, et, après lavage préalable, j'ai conservé les préparations desséchées à l'air libre.

46. Indol (C^8H^7Az ?).

Cette substance a été employée tout récemment par M. *Niggl* [3] comme réactif du *lignin* ou des membranes lignifiées. La découverte de cette réaction est due à M. le professeur *Bæyer*, de Munich (*Ann. d. Chem. u. Pharm.*, Bd 140). On dissout quelques cristaux d'Indol dans une assez grande quantité d'eau distillée chaude. On place les coupes dans une goutte de cette solution, et après quelques minutes on les lave avec de l'acide sulfurique dilué (1. p. d'acide pour 4 p. d'eau). Les membranes lignifiées se colorent ainsi en rouge très intense (voy. aussi Phloroglucine).

1. Koch, *Conserv. u. Photogr. etc., l. c.*, p. 421.
2. Koch, *Wundinfections Krankh.*, 1878, p. 30.
3. Flora, 1881, n° 35 d. 545.

47. Eosine.

Ce dérivé de l'acide phtalique, d'une couleur rose magnifique et d'un beau vert par fluorescence, est employé en solution aqueuse; des quantités même minimes de cette substance possèdent un pouvoir colorant considérable [1].

Elle a été employée pour colorer la *Sarcina* et le *Sarcinoglobulus;* elle ne paraît pas convenir pour la coloration des Bactéries (*Bacillus*, *Bacterium*, etc.); dans les tissus des plantes supérieures, où son action est loin d'être suffisamment connue, elle colore en beau rose le protoplasma *mort.*

L'éosine convient très bien pour la coloration du protoplasma des tubes cribreux, ainsi que pour la préparation des noyaux cellulaires. L'éosine est aussi employée pour l'imprégnation préalable dans les doubles colorations des préparations destinées à être traitées par le *bleu de Nicholson.* On fixe ensuite à l'aide de l'alcool, et l'on conserve dans la résine de Damara (*Journ. of the roy. mic. Soc.*, vol. III, 1880, p. 693).

48. Acide rosolique.

Recommandé par E. *Janczewski* [2] comme « le

1. Poulsen, *l. c.*, p. 7 du mémoire séparé. — Les préparations colorées par l'éosine peuvent être conservées dans la glycérine.

2. Etudes comparées sur les tubes cribreux. — *Mém. de la*

meilleur des réactifs, qui colorent la *substance calleuse* des tubes cribreux ». Ce réactif doit être additionné d'un peu d'ammoniaque ou de carbonate de soude.

49. Nigrosine.

M. Errera [1] a recommandé cette substance pour la coloration des noyaux des cellules; elle colore les noyaux en bleu très foncé; tout le reste du contenu cellulaire demeure sensiblement incolore. Après un court séjour dans une solution aqueuse de nigrosine, la coupe microscopique est lavée à l'eau distillée. On peut alors monter dans la glycérine ou dans la gélatine glycérinée lorsqu'il importe d'étudier le protoplasma et la partie du noyau formée par l'*achromatine* de Flemming. Si l'on veut examiner la *chromatine* (= nucléine) il faut laver à l'alcool, puis éclaircir avec l'essence de girofle et monter dans le baume du Canada ou le damar.

50. Couleurs d'aniline.

C'est dans ces dernières années seulement que les couleurs d'aniline ont été introduites dans la

Soc. des Sc. nat. de Cherbourg. T. XXIII, 1881, p. 350. — La découverte a été faite par M. Szyszyloviez.

1. *Société belge de microscopie*, 26 juin 1881.

microchimie, où dans beaucoup de cas elles sont employées très avantageusement [1].

a. La *fuchsine* en solution alcoolique colore surtout les membranes cellulaires fortement épaissies, souvent les différentes couches avec une intensité différente. Les coupes que l'on veut colorer ne doivent pas être alcalines, autrement la couleur serait détruite. Elles doivent être traitées par des solutions alcooliques, car l'eau précipite cette matière colorante. Les préparations ainsi colorées, de même que celles obtenues par les autres couleurs d'aniline, ne se conservent sans altération que pendant un temps limité; c'est dans l'obscurité qu'elles se maintiennent le plus longtemps [2].

b. *Bleu d'aniline.* — M. *Wilhelm* [3] et surtout M. *Russow* [4] ont recommandé le bleu d'aniline (en solution aqueuse) pour la coloration des *plaques calleuses* des cellules criblées. Après avoir traité les coupes par la matière colorante on les lave dans l'eau; le protoplasma s'est coloré en bleu violet, les noyaux en indigo foncé, les membranes

1. Wigand, *Bot. Ztg.*, 1862, p. 129. — Hanstein, *Bot. Ztg.*, 1868, p. 708.

2. Salomonsen (*l. c.*, p. 15) recommande beaucoup le sulfate de rosaniline pour colorer les Bactéries du sang putréfié. Il l'emploie en solution aqueuse concentrée préparée à chaud et filtrée après refroidissement.

3. *Siebröhren*, 1880, p. 36.

4. *Sitzber. d. Naturf. Ges.*, Dorpat, 1881, p. 63.

cellulosiques en bleu et les plaques calleuses en azur. On renferme ensuite les préparations dans de la glycérine, et au bout de quelques jours on ne trouvera plus que les plaques et les noyaux colorés ; les premières sont de plus très visibles, à cause de leur réfringence considérable. Ces préparations se conservent sans altération pendant plusieurs mois.

Pour donner une coloration très intense aux bactéries, je puis recommander le bleu d'aniline en solution aqueuse. On procède tout à fait comme pour le traitement par le violet de Paris (violet de méthyl-aniline), et il faut de même conserver les préparations colorées dans le baume du Canada pur, car la solution de ce baume dans du chloroforme extrait la matière colorante.

c. Le *violet d'aniline* de *Hanstein* se prépare en mélangeant parties à peu près égales de violet de méthyl-aniline et de fuchsine et en dissolvant dans l'alcool. Son action dépend du pouvoir différent qu'ont les substances contenues dans les tissus ou dans les cellules de retenir le mélange des deux matières colorantes.

Cette couleur d'aniline colore le protoplasma en bleu violet, les substances amylacées, les noyaux cellulaires et les gommes en rouge de diverses nuances, la couche externe des noyaux cellu-

laires en bleu léger, les résines en bleu pur (dans beaucoup de collétères la cuticule bleuit également); les tannins sont colorés en rouge fauve. La membrane cellulaire se colore légèrement en violet, plus fortement si elle contient du lignin, et en rougeâtre si elle est de nature gommeuse. Les cellules libériennes proprement dites se colorent fortement en rougeâtre; les tubes cribreux et le liber mou ne prennent pas de coloration intense, ce qui est surtout utile dans l'étude des faisceaux fibro-vasculaires des Monocotylédones.

d. *Violet de méthyl-aniline* (violet de Paris, violet de méthyl-aniline Nr. BBBBB).

Cette matière colorante a été recommandée pour les bactéries par *Koch* [1] dont nous allons donner le procédé.

Les bactéries fixent si rapidement cette matière colorante que nous avons en elle un réactif sûr pour ces organismes, dans les cas où il pourrait y avoir confusion avec de petits corps gras ou d'autres globules analogues excessivement petits.

On ajoute quelques gouttes d'une solution alcoolique concentrée de violet de Paris à 15 ou 20 grammes d'eau distillée, jusqu'à ce que celle-ci

1. Koch, *Conserv. u. Photogr., etc., l. c., p.* 408.

soit fortement colorée. A l'aide d'une pipette, on porte ensuite quelques gouttes de ce liquide sur la couche de bactéries qu'on veut colorer; on laisse le liquide se répandre sur la préparation, et on le déverse enfin lorsqu'on estime que la coloration est devenue suffisamment intense. Avec un peu d'exercice on arrivera facilement à juger exactement de la concentration du liquide colorant et de la durée de l'action nécessaires. Si la solution est trop faible elle détache la couche de bactéries du porte-objet; si elle est trop forte elle colore trop la masse fondamentale dans laquelle se trouvent les bactéries. Cette opération terminée on lave la préparation à l'eau distillée ou avec une solution d'acétate de potasse (1 : 10). On expose la préparation à l'air pendant une demi-heure et l'on peut ensuite la placer dans du baume du Canada. La glycérine ne saurait être employée car elle extrait la matière colorante. Si les préparations doivent être photographiées il faut les conserver dans l'acétate de potasse et les lutter hermétiquement.

e. *Brun d'aniline* (chlorhydrate de triazoamidobenzol). — Cette couleur s'emploie comme le violet de méthyl-aniline[1]. Elle est encore plus conve-

1. och, *l. c.*, . 406.

nable que ce dernier pour les préparations à photographier; mais celles-ci doivent être conservées dans la glycérine, car l'acétate de potasse en extrait la couleur. Comme liquide colorant on peut recommander une solution concentrée dans la glycérine et l'eau distillée à parties égales; l'excès de matière colorante est enlevé à l'aide de la glycérine.

f. Le *vert d'aniline* (vert de méthyl-aniline) est conseillé par *Hanstein* pour colorer les grains de chlorophylle, qui prennent par ce réactif une couleur verte intense, d'une nuance différente de leur nuance naturelle.

Treub [1] l'a recommandé pour colorer les noyaux cellulaires; les noyaux qui ne sont pas en voie de division se colorent *légèrement* en vert; pendant les phases de la division, ce sont surtout les *plaques* dites *nucléaires* qui prennent une couleur verte manifeste. *Strasburger* l'emploie dans le même but avec 1 0/0 d'acide acétique [2].

Les matières colorantes ci-dessus mentionnées sont le plus communément et le plus avantageusement employées. Il en existe une foule d'autres qui ont été proposées pour divers buts, mais nous pouvons ici les passer sous silence.

1. Treub, *Cellules végétales à plusieurs noyaux*, *l. c.*
2. Strasburger, *Zellb. u. Zellth.*, III Aufl., 1880.

APPENDICE

Avant de terminer cette première partie, nous dirons un mot des plus importantes substances employées en micrographie végétale pour conserver les préparations.

Il est évident que dans beaucoup de cas le manipulateur doit s'ingénier lui-même à trouver la substance la plus convenable pour la conservation de ses préparations; on ne saurait tout apprendre dans les livres; mais il y a certaines substances qui conviennent particulièrement pour une foule d'objets les plus divers et que l'on doit par conséquent essayer de préférence.

1. La *glycérine* convient pour presque toutes les préparations végétales. Les Floridées et les Diatomées seules doivent être conservées dans d'autres milieux, les premières parce que leurs membranes gonflent souvent très fortement dans ce liquide, surtout si elles n'ont pas été préalablement déshydratées par l'alcool absolu, les dernières parce que leur structure ne s'y distingue pas avec la netteté désirable. Les bactéries également, surtout quand elles ne sont pas colorées, deviennent tellement claires qu'il peut arriver qu'on ait de la peine à les distinguer.

2. *Gélatine glycérinée.* — Cette substance s'obtient (pour les préparations d'Algues), d'après les prescriptions de *Nordstedt* [1], de la manière suivante : Une partie de gélatine pure est mélangée à trois parties d'eau distillée bouillante et quatre parties de glycérine. Par repos et refroidissement, la masse se solidifie; pour l'employer, il faut la chauffer légèrement; on évite la formation de moisissures en y ajoutant un petit fragment de camphre ou une goutte d'acide phénique.

Nous devons à *Kaiser* [2] une autre prescription : une partie en poids de gélatine française très fine est ramollie dans six parties d'eau distillée pendant environ deux heures. On y ajoute ensuite sept parties de glycérine chimiquement pure, et à 100 grammes de ce mélange on ajoute 1 gramme d'acide phénique. Puis on chauffe le mélange pendant dix à quinze minutes jusqu'à ce que le liquide soit clair. On filtre ensuite sur du verre filé.

Ce mélange qui en couche mince est parfaitement limpide et transparent, convient bien pour toutes les préparations qui doivent rester immobiles sous le couvre-objet, mais qui sont trop

1. Nordstedt, *l. c.*
2. Kaiser, *Bot. Centralbl.*, *l. c.* — Voy. aussi *Glycerin-Gelatin for mounting*, in *Journ. of. roy. micr. Soc.*, 1880, vol. III, p. 502.

petites pour que la pression de ce dernier puisse les maintenir en place; les grains de pollen, l'amidon, les ferments, les spores et surtout les algues unicellulaires, par exemple les Desmidiacées, doivent être placées dans cette substance. S'agit-il de garantir autant que possible la structure du protoplasma et la disposition des corps chlorophylliens, il faut que les plantes soient durcies préalablement par une solution aqueuse d'acide osmique (1 : 800) ou par l'alcool absolu. Après durcissement, les préparations sont transportées d'abord dans de la glycérine étendue, puis dans la gélatine glycérinée.

Quand celle-ci est refroidie, on lute les couvre-objet.

3. *Chlorure de calcium.* — La solution aqueuse de ce sel est usitée pour les préparations les plus diverses, l'amidon excepté. Une partie de chlorure de calcium et 3 p. d'eau distillée avec une goutte d'acide chlorhydrique (pour éviter la cristallisation ultérieure du liquide sous le couvre-objet) forment la solution la plus convenable. Toutefois l'emploi de ce liquide conservateur entraîne tant d'inconvénients, que je préfère l'éviter dans les recherches microscopiques de botanique.

4. *Acétate de potasse.* — La solution aqueuse concentrée de ce sel sert pour des préparations d'Algues, des préparations anatomiques, ainsi que

pour la conservation des Bactéries colorées au violet de méthyl-aniline. Les préparations doivent être abandonnées à elles-mêmes pendant vingt-quatre heures avant d'être lutées.

5. *Baume du Canada.* — Cette substance, qui, chauffée légèrement, devient liquide, est très employée pour conserver les Diatomées, dont la structure délicate apparaît avec toute la netteté désirable dans un tel milieu. Au lieu de baume pur on peut employer sa solution dans l'éther ou le chloroforme, qui est bien plus commode à manier. On ne peut conserver dans le baume du Canada que les objets qui ne contiennent pas beaucoup d'eau; si les objets sont mous et aqueux, il faut, avant de les placer dans le baume, les déshydrater dans l'alcool absolu ou les dessécher à l'air et, si cela est nécessaire, les traiter ensuite par l'essence de girofle. Bien que les préparations au baume du Canada ne puissent ni se dessécher ni se déplacer une fois qu'elles sont refroidies et solidifiées, il faut néanmoins qu'elles soient lutées; sans cette précaution un choc même léger peut décoller facilement le couvre-objet du baume, sans pour cela le faire tomber; ce décollement total ou partiel se reconnaît aussitôt par l'apparition des anneaux colorés de Newton.

La *naphtaline monobromée* ($C^{10}H^7Br$) a été récem-

ment recommandée comme liquide conservateur pour les préparations de Diatomées (*Journ. of the roy. micr. Soc.*, vol. III, 1880, p. 1043). Suivant les expériences du Dr *Van Heurck*, les systèmes de lignes et de stries des frustules de ces végétaux se montrent avec une netteté et une élégance qui n'ont été observées jusqu'à présent dans aucun autre liquide additionnel. Ce liquide doit être incolore, de consistance huileuse; il ne se dissout pas dans l'eau, mais bien dans l'éther et dans l'alcool; les préparations qui contiennent de l'eau sont préalablement déshydratées dans l'alcool absolu ou desséchées complètement. La monobromonaphtaline n'est pas volatile.

Je me suis servi de cette substance pour la préparation des Bactéries et l'ai trouvée d'une grande utilité. Le traitement des Bactéries, préalablement colorées par une solution alcoolique d'aniline (rouge ou violette) et desséchées sur le porte-objet, est le même que pour les préparations au baume du Canada.

Comme *mastics* ou *luts* pour les préparations on a proposé une foule de compositions; un petit

1. Bibliographie concernant les milieux conservateurs : Dippel, *Mikr.*, I, p. 470 et suiv. — Schacht, *Mikr.*, p. 28. — Sanio, *Bot. Ztg.*, 1863, p. 359. — Koch, *Cohn's Beitr.*, II Bd., p. 407. — Bachmann, *l. c.* — Frey, *l. c.*, p. 122 et 125. — Harting, *Mikr.*, III, p. 409. — Pelletan, *l. c.*, p. 178 et suiv.

nombre seulement d'entre elles me paraissent mériter une attention réelle; je me permettrai donc d'ajouter à la courte digression, faite à propos des liquides conservateurs, quelques observations sur les mastics pour luter les préparations. Ces mastics doivent unir solidement et hermétiquement le couvre-objet au porte-objet, n'avoir aucune action sur les liquides conservateurs et n'être pas attaqués par ceux-ci; enfin ils ne doivent ni s'altérer ni se fendiller avec le temps.

Les substances que, d'après ma propre expérience, je crois pouvoir conseiller sont le *vernis d'asphalte* (qu'on peut acheter tout préparé et qui est composé d'asphalte dissous dans de l'huile de lin et de l'essence de térébenthine), le *prepared Goldsize* (une sorte de copal) et une solution alcoolique de *cire à cacheter* de première qualité de *Holmblad* (fabrique à Copenhague). Avant d'être appliquées sur les préparations à l'aide d'un pinceau mou, toutes ces substances doivent être amenées à une consistance visqueuse convenable et ne pas se solidifier trop rapidement. La fermeture la plus solide s'obtient en appliquant d'abord une couche de vernis d'asphalte et par-dessus celle-ci, quand elle est à moitié solidifiée, une couche de la solution de cire à cacheter.

Je dois encore mentionner une composition

nouvelle qui à mon avis pourrait être recommandée. Nous l'avons essayée dans notre laboratoire de Copenhague, et jusqu'à présent elle a donné de bons résultats. On mélange 50 grammes de baume du Canada, 50 grammes de gomme laque, 50 grammes d'alcool fort et 100 grammes d'éther; on filtre et l'on évapore (au bain-marie) jusqu'à consistance sirupeuse. J'appelle ce mélange *mastic de Gram-Rützou*, du nom de l'inventeur.

Le *mastic noir* (Maskenlack Nr. 3), recommandé par les Allemands, ainsi que le *mastic de Ziegler* et d'autres compositions étrangères, ne me sont pas connues par expérience. Cependant je puis conseiller la *laque du Japon;* elle me paraît très convenable pour la première fermeture (absolument comme le vernis d'asphalte).

Dans le laboratoire de Rome, on emploie un mastic qui se prépare en dissolvant à chaud 100 p. de résine de Dammara dans 100 p. de benzine et en y ajoutant 60 p. de noir d'ivoire broyé à l'huile (A. P.).

Pour coller l'étiquette sur le porte-objet, on doit se servir d'une solution alcoolique de *gomme laque*, parce que la gomme arabique et les autres substances adhésives n'ont pas de prise sur le verre.

DEUXIÈME PARTIE

SUBSTANCES VÉGÉTALES ET MÉTHODES POUR LES RECONNAITRE

1. Cellulose ($C^6H^{10}O^5$).

La *cellulose pure* se colore en violet par le chlorure de zinc iodé, en bleu par l'iode et l'acide sulfurique, en brun ou jaune variant jusqu'au jaune brunâtre par la teinture d'iode; souvent elle prend une coloration bleue pure par simple addition d'eau aux préparations desséchées au contact de l'iode. La cellulose jeune ne se colore très souvent en bleu par l'iode et l'acide sulfurique qu'après avoir été traitée par l'acide chlorhydrique ou soumise à une pression assez forte sous le couvre-objet [1].

La cellulose des graines de *Pæonia* bleuit par une solution d'iode dans l'iodure de potassium. La cellulose gonfle dans une solution aqueuse

1. Richter, *l. c.*

d'hydrate de potasse, ainsi que dans les acides minéraux, et par ce moyen la stratification des membranes apparaît très souvent, avec une netteté bien plus grande. Elle se dissout dans l'acide sulfurique concentré en formant de l'amyloïde et dans le liquide cupro-ammoniacal (sans formation d'amyloïde). On peut de nouveau la précipiter de cette solution par de l'alcool absolu.

Les couleurs d'aniline colorent la cellulose avec une intensité variable; l'alcanna et le carmin ne la colorent pas du tout ou très légèrement. La cellulose jeune chauffée dans une solution concentrée d'hydrate de potasse et puis traitée par le sulfate de cuivre demeure incolore; la cellulose un peu plus âgée prend par ce traitement une coloration légèrement bleuâtre. Le carmin aluné de *Grenacher* colore la cellulose en rouge (voir p. 57).

2. Lignin.

Les membranes lignifiées deviennent jaunes par le chlorure de zinc iodé; elles se dissolvent dans les acides sulfurique et chromique concentrés, mais non dans la liqueur cupro-ammoniacale, ni dans le liquide macératoire de *Schultze*. Traitées d'abord par une solution aqueuse de sulfate de cuivre, puis par une solution concentrée et bouillante d'hydrate de potasse, elles prennent souvent

une couleur brune. Traitées par une solution aqueuse de sulfate d'aniline (de naphtalidine ou de toluidine), puis imbibées d'acide sulfurique étendu, elles deviennent d'un *beau jaune* (réaction de *Wiesner*). Souvent cette réaction se produit sans l'addition d'aucun acide. Avec l'acide chlorhydrique et la phloroglucine toutes les membranes lignifiées se colorent en très beau *rose*. Le même acide donne avec l'extrait de bois de cerisier (xylofiline de *Höhnel*) une coloration *rose violacé*, tandis qu'on obtient une teinte *vert bleuâtre* en traitant successivement par l'acide chlorhydrique et l'acide phénique.

Les membranes lignifiées absorbent toutes les couleurs d'aniline avec une grande avidité ; mais, comme celles de cellulose pure, elles ne sont pas colorées par l'éosine étendue.

Elles sont colorées en *rouge* très intense par l'indol (réaction de *Niggl*). Le carmin aluné de *Grenacher* ne les colore pas. En faisant bouillir les membranes lignifiées dans des alcalis, ou dans le liquide macératoire de *Schultze*, ou encore dans l'acide nitrique concentré on les débarrasse des matières *incrustantes*, et l'on peut alors produire la réaction de la cellulose par les réactifs appropriés.

3. Substance intercellulaire (lamelle moyenne).

Insoluble dans l'acide sulfurique concentré, dans la liqueur cupro-ammoniacale et dans l'acide chromique étendu; très difficilement soluble dans l'acide chromique concentré. Soluble dans le mélange macératoire de *Schultze* (ce qui est surtout important pour l'étude du bois); parfois soluble dans la potasse caustique diluée et quelquefois même dans l'eau bouillante.

La substance intercellullaire se colore rapidement et fortement par les couleurs d'aniline; elle prend une teinte janne par le chlorure de zinc iodé; par l'acide nitrique chaud et l'ammoniaque, elle devient d'un beau jaune [1].

Voir *Pectine* (p. 95).

4. Subérine.

Insoluble dans l'acide sulfurique concentré et dans l'oxyde de cuivre ammoniacal; très résistante à l'acide chromique. Traitées par la potasse caustique bouillante, les membranes subérifiées produisent des masses granuleuses particulières de couleur jaune d'ocre; bouillies dans l'acide nitrique et le chlorate de potasse, elles donnent des masses d'acide cérinique, soluble dans l'alcool, l'éther, la benzine et le chloroforme.

1. Solla, *l. c.* — Höhnel, *Mittellamelle, etc.*

Les membranes des cellules subéreuses jaunissent par le chlorure de zinc iodé, mais ne rougissent pas par le carmin aluné de *Grenacher*.

Olivier [1] indique la méthode suivante pour la coloration des membranes *subérifiées* : Les coupes transversales des tissus à étudier sont plongées dans une solution mi-alcoolique mi-aqueuse de fuchsine; toute la préparation s'imprègne de matière colorante. Si ensuite on l'immerge dans l'alcool absolu, la fuchsine déposée dans les membranes cellulosique se dissout, tandis que les parois subérifiées restent colorées en rouge.

5. Substance des membranes des champignons.

En 1866, M. de Bary [2] a donné le nom de « Pilzcellulose, » *cellulose des champignons*, à la substance qui constitue les membranes de ces plantes. Déjà en 1852 *Schacht* [3] avait constaté que ces membranes étaient très résistantes aux réactifs microchimiques et surtout que la réaction caractéristique de la cellulose pure ne réussissait jamais. Plus tard, on a donné les noms de *fungine*

1. Olivier, *Note sur le système tégumentaire des racines chez les Phanérogames*, *Bull. de la Soc. bot. de France*, t. 27, 1880, p. 234-235.
2. *Physiol. u. Morph. d. Pilzen, Flechten u. Myx.*, p. 7. et suiv.
3. *Die Pflanzenzelle*, p. 9.

et de *métacellulose* à cette substance douteuse. Récemment M. *Richter* [1] a réussi à montrer que les membranes des hyphes des champignons sont en réalité formées de cellulose comme substance fondamentale, dont la reconnaissance est rendue difficile par la présence de matières infiltrées (peut-être des matières protéiques). Quand on traite le tissu des champignons, pendant deux ou trois semaines ou même davantage, par de la potasse concentrée, fréquemment renouvelée, surtout si l'on fait ensuite bouillir dans ce liquide, on verra les membranes bleuir par les réactifs caractéristiques de la cellulose pure [2].

On n'a donc point de raison pour considérer la « métacellulose » comme une substance particulière. On doit y voir simplement une modification analogue à celle des membranes du bois et du périderme.

Les paraphyses et les asques des Lichens et souvent aussi les hyphes du tissu médullaire se colorent ordinairement en bleu par l'iode; cette coloration doit être attribuée à la substance caractéristique de ces plantes : la *lichénine*.

1. *Beitr. zur genaueren Kentniss d. Chem. Beschaff. d. Zellmembr. bei den Pilzen. — Sitzber. de Wiener Akad.*, 1881. I, *Abth*, 82 *Bd.*
2. Van Tieghem, *Traité de botani* 1882, p. 569.

6. Matières protéiques.

Elles se caractérisent facilement par la couleur *brune* que leur donne la teinture d'iode, la couleur *rose* qu'elles prennent par le réactif de *Millon*, surtout si l'on chauffe légèrement, et par la couleur *jaune* qu'elles acquièrent lorsqu'on les traite par l'acide nitrique [1] (ou par cet acide et l'ammoniaque). Avec la solution alcoolique de sublimé corrosif, elles forment, au bout d'environ douze heures, une combinaison insoluble dans l'eau. Traitées par une solution alcaline d'oxyde de cuivre (réactif de *Trommer*), les matières protéiques se colorent en violet; par le sucre et l'acide sulfurique (réactif de *Raspail*, 1833), elles deviennent rouges. Elles ont la propriété caractéristique de retenir et de condenser différentes substances colorantes, par exemple la cochenille, le carmin, la solution aqueuse du bleu d'aniline, etc [2].

Pour la préparation des *grains d'aleurone*, nous nous sommes servi au laboratoire de Copenhague de la méthode suivante. Les coupes sont traitées pendant quelques jours par une solution alcooli-

1. Découvert par Glauber en 1686 (*Explicatio miraculi mundi*). — Mulder a donné au composé jaune le nom d'acide xanthoprotéique.

2. Vines, *Chemical composition of the Aleuron grains* (*Roy. Soc. of London*, 1880, may 13). — *Nature*, 1880, vol. 22, n° 552, p. 91. — *Journ. of the roy. micr. Soc.*, vol. III, 1880, p. 667

que de chlorure mercurique (5 0/0), comme l'a fait M. *Pfeffer*. Elles sont ensuite colorées par une solution aqueuse d'éosine et renfermées sous couvre-objet dans l'acétate de potasse (en solution aqueuse à parties égales). Les *cristalloïdes* deviennent ainsi très distincts, et, si la solution d'éosine n'était pas trop concentrée, ils prennent ordinairement une nuance rouge différente de celle de la masse fondamentale.

7. Protaplasma.

Le protaplasma est le corps *vivant* de la cellule. La *cause chimique* de cette vie — si toutefois une telle cause chimique existe en réalité — n'est pas encore découverte; mais il semble qu'on ait fait quelques pas vers la solution de ce problème intéressant. On a réussi à découvrir tout récemment une réaction du protoplasma vivant; en effet, dans cet état, le protoplasma renferme de l'*aldéhyde* libre, qui n'existe pas dans le protoplasma mort. Cette aldéhyde a la propriété de précipiter l'argent métallique d'une solution alcaline de nitrate même extrêmement diluée. Le plasma vivant se colore en conséquence par ce réactif en *noir très prononcé* (voy. *Nit. d'argent*, p. 45).

Puisque ce corps est un mélange de diverses

combinaisons protéiques, il nous présente les réactions mentionnées à l'article précédent. Le protoplasma vivant n'a pas, comme le protoplasma mort, le pouvoir de retenir les matières colorantes. Traité par l'hydrate de potasse ou l'ammoniaque concentrée, il devient plus clair et plus transparent, tandis que l'acide acétique produit l'effet inverse. L'acool absolu a une action très caractéristique; en effet, il coagule instantanément le protoplasma, et cette propriété a une importance toute particulière dans les différentes recherches sur la structure du protoplasma, sur les phénomènes qui se passent dans le sac embryonnaire, sur la division des noyaux cellulaires, etc. Une solution aqueuse d'acide osmique, même très étendue (1 : 800), agit d'une manière tout à fait analogue.

Les solutions aqueuses, mais pas trop diluées, de sucre, de chlorure de sodium, d'alcool, de glycérine, etc., contractent le corps protoplasmique, le détachent des parois de la cellule en lui enlevant de l'eau et lui ôtent partiellement sa turgidité, souvent sans lui ravir en même temps la vie (cela ne s'applique naturellement pas à l'alcool peu dilué, qui est toujours toxique).

Le *métaplasma* de *Hanstein*[1], c'est-à-dire le pro-

1. Hanstein, *Bot. Ztg.*, 1868, p. 709.

toplasma contenant les matières plastiques organiques (matières amylacées, protéiques, etc.), est coloré en rouge presque écarlate par le violet d'aniline de Hanstein ; l'*épiplasma* de *de Bary* [1], (modification spéciale du protoplasma des thèques des Ascomycètes) se colore en rouge brun ou violet brun par des solutions d'iode même très étendues.

La préparation microtechnique des *noyaux cellulaires*, étudiés avec tant d'ardeur pendant ces dernières années, a fait des progrès considérables [2].

L'acide acétique, l'alcool et l'acide osmique les rendent très nettement visibles et sont employés avec avantage dans leur étude.

Les noyaux cellulaires possèdent à un haut degré le pouvoir de retenir et de condenser les matières colorantes. Ces dernières et parmi elles surtout l'hématoxyline, le vert d'aniline, le carmin aluné de *Grenacher* ou une simple solution de carmin, ainsi que la solution de picrocarminate d'ammoniaque, donnent aux noyaux une coloration bien plus accentuée qu'au protoplasma ambiant.

1. De Bary, *Morph. u. Phys. der Pilze*, p. 103.
2. Strasburger, Hanstein, Ranvier, Treub, Schmitz et d'autres ont rendu beaucoup de services en ce sujet. — Voy. aussi Treub, in *Actes du congrès intern. de bot. à Amsterdam en* 1877, Leyde, 1879. — Maupas, *l. c.*

L'iode agit tout à fait de même. *Maupas* conseille de traiter sucessivement par l'alcool, le picro-carmin et l'acide acétique.

8. Nucléine [$C^{29}H^{49}Az^{9}Ph^{3}O^{22}$?, Miescher].

C'est la substance par laquelle on croit constitués les noyaux cellulaires tant des végétaux que des animaux.

A peu près insoluble dans l'eau, tout à fait insoluble dans les acides minéraux étendus, elle est au contraire facilement soluble dans les solutions alcalines même diluées, dans l'ammoniaque, dans l'acide nitrique concentré et dans l'acide chlorhydrique fumant. La solution de chlorure de sodium transforme la nucléine en une gélatine fluide, cohérente, visqueuse que l'*iode* colore en *jaune* et le *réactif* de *Millon* en *rouge*. Par l'ensemble de ses réactions et par le fait qu'elle contient du phosphore, la nucléine se distingue des corps albuminoïdes (Zacharias, *Ueber die chemische Beschaffenheit des Zellkerns : Bot. Ztg.*, 1881, nº 11, p. 169).

9. Amidon ($C^{6}H^{10}O^{5}$) [1].

L'amidon bleuit par la teinture d'iode, l'iodure

1. Walter Nägeli. *Beitr. z. näheren Kenntniss der Stärkegruppe*, 1874. — Van Tieghem, *l. c.*, p. 513.

de potassium iodé et les autres préparations qui contiennent de l'iode, *libre : l'amylocellulose*, un des composants de l'amidon, ne réagit pas avec l'iode, tandis que l'autre, la *granulose*, se colore en bleu. L'« iodure d'amidon » ainsi obtenu n'est pas un composé chimique, mais doit être considéré plutôt comme une solution (moléculaire?) de l'iode dans la granulose [1]. Dans cette réaction, il faut toujours se rappeler que la présence de l'eau est une condition *sine quâ non* pour obtenir le bleuissement. Sans eau, point d'iodure d'amidon. De l'amidon sec traité par les vapeurs d'iode, par l'alcool iodé anhydre ou par le chloroforme iodé se colore en brun, comme la cellulose et l'amylocellulose.

Toutes les substances qui peuvent se combiner directement avec l'iode décolorent l'iodure d'amidon. En chauffant légèrement dans l'eau, on obtient le même résultat; mais, par refroidissement, la couleur apparaît de nouveau.

Chauffés lentement dans de l'eau, les grains d'amidon gonflent fortement d'habitude, lorsqu'on atteint une température d'environ 50° C. Il se forme ainsi de la *colle d'amidon*, qui reste à vrai dire en

1. Lorsqu'on traite longtemps l'amidon par une solution saline qui contient un excès d'iode libre, il se forme probablement un autre composé, qui, même chauffé au rouge, retient encore environ 3 0/0 d'iode (*Chemical News* 1873, t. 28, p. 248 ; — E. Sonstadt, *Note on the compounds of starch with iodine*).

suspension dans l'eau, mais qui ne forme jamais une véritable solution diffusible.

La colle d'amidon réagit comme l'amidon ordinaire. Les solutions de chlorure de calcium, de chlorure de zinc, d'hydrate de potasse et l'iodure de potassium iodé concentré, de même que les acides minéraux, les acides phénique, acétique, trichloroacétique, produisent, suivant le degré de concentration, une transformation plus ou moins complète de l'amidon en colle. Le début de cette transformation se manifeste toujours par une apparition plus nette de la stratification des grains; l'acide chromique dilué surtout agit dans ce sens: c'est à l'aide de ce réactif qu'on a reconnu les couches des grains d'amidon si caractéristiques du latex des Euphorbiacées.

L'alcool absolu a une action tout inverse; en traitant l'amidon par ce liquide, la stratification disparaît souvent complètement.

La liqueur cupro-ammoniacale fait gonfler fortement les grains d'amidon, mais ne les transforme pas en colle; ce réactif colore de plus les grains en bleu léger.

La manière de reconnaître l'amidon dans les grains de chlorophylle est indiquée à la page 7[1].

1. Crié a découvert dans les asques du *Sphœria Desmazierei* Berk. une substance nouvelle qu'il appelle *amylomycine* et qui,

10. Dextrine ($nC^6H^{10}O^5$).

Ce produit de transformation de l'amidon, peut être reconnu dans les cellules végétales à l'aide du réactif de *Trommer* (p. 42); le précipité rouge cinabre est finement granuleux et montre très nettement les mouvements browniens (voy. aussi *Glucose*).

11. Glucose ($C^6H^{12}O^6$). *Sucre de raisin, Dextrose.*

Peut être reconnu par le réactif de *Trommer* ou par la liqueur de *Fehling* (p. 43); la réaction, sur laquelle d'ailleurs on ne peut pas entièrement compter, se manifeste par un précipité jaune rouge d'oxydule de cuivre. La réaction de *Barfœd* [1], qu'on obtient en faisant bouillir les tissus avec une solution aqueuse d'acétate neutre de cuivre, donne, après long repos, un précipité rouge (que ne produit pas la dextrine). A la température normale, le glucose donne un précipité avec l'acétate neutre de cuivre, tandis que la dextrine se maintient claire pendant très longtemps.

selon lui, aurait la même réaction que l'amidon. Nous la mentionnons ici, bien que la manière peu satisfaisante dont l'auteur la caractérise nous autorise à douter de la véritable nature de cette substance (*Comptes rendus*, t. 88, p. 758 et 985).

1. Réactif de Barfœd, *Zeitsch. f. analyt. Chem.*, Bd. XII, p. 27. — Sachsse, *l. c.*, p. 192. — Je ne connais point par expérience le réactif ci-dessus mentionné; mais il mérite d'être cité, car il arrive souvent que des méthodes d'essais macroscopiques peuvent aussi être appliquées en microchimie. (V. A. P.)

12. Saccharose ($C^{12}H^{22}O^{11}$, *Sucre de canne*).

Les cellules contenant cette substance ne donnent aucun précipité avec le réactif de *Trommer*, mais elles se colorent en violet pur foncé. Lorsque la saccharose est abondante dans le tissu, on peut la faire cristalliser par l'action de l'alcool absolu (voy. p. 31; voy. aussi la réaction de la glycérine de *Kraus*, p. 33).

13. Inuline ($C^6H^{10}O^5$) ! — *Sinistrine* [1], *Synanthérine.*

De même que les espèces précédentes de sucres, l'inuline se trouve en dissolution dans le suc cellulaire. Si l'on traite un tissu contenant de l'inuline par l'alcool ou la glycérine, il se forme des sphéro-cristaux d'inuline (voy. p. 31 et 33). Ceux-ci se dissolvent facilement dans l'eau à 50-55° C., dans les acides et dans la liqueur cupro-ammoniacale; mais ils sont complètement insolubles dans l'eau froide. La teinture d'iode colore en brun les sphéro-cristaux en pénétrant dans leurs petites fissures ; leurs couches concentriques se montrent plus distinctement lorsqu'on les traite par la so-

1. La même formule correspond aussi à l'hydrate de carbone décrit récemment sous le nom de Sinistrine par le professeur Schmiedeberg dans les tuniques du bulbe d'*Urginea Scilla* (*Zeitsch. f. physiol. Chem.*, 1879, p. 112; — *Bot. Ztg.*, 1879, p. 513).

lution cupro-ammoniacale ; l'hydrate de potasse dissout les sphéro-cristaux

En faisant bouillir l'inuline avec des acides étendus ou sous une forte pression, elle se transforme en lévulose.

14. Hespéridine (Lebreton ?, Pfeffer).

Les sphéro-cristaux d'hespéridine, insolubles dans la plupart des acides, dans la glycérine et dans l'alcool absolu, de même que dans l'eau froide et dans l'eau bouillante, se dissolvent facilement dans la solution aqueuse ou alcoolique d'hydrate de potasse, en lui communiquant une couleur jaune ou rougeâtre ; ils se dissolvent aussi, mais plus difficilement, dans l'acide acétique concentré bouillant, dans l'ammoniaque et dans les carbonates alcalins.

Comme matériaux d'étude, on peut recommander les oranges non mûres[1].

15. Gommes.

On ne connaît pas de réactifs microchimiques sûrs pour les substances gommeuses. Elles sont insolubes dans l'alcool, gonflent fortement dans

1. W. Pfeffer, *Hesperidin*. — *Bot. Ztg*. 1874, p. 481. — Mika, *Beitr. z, morph. u. mikrosk. Nachweisung des Hesperidins*. — Je ne connais ce dernier travail que d'après le Jahresber. de Just.

l'eau et ne se colorent pas en bleu par l'iode ni par l'iode et l'acide sulfurique. Les parois des cellules gommeuses se colorent en rouge par le *violet d'aniline* de *Hanstein* (p. 67).

16. Mucilages des végétaux [1] [3 $(C^6H^{10}O^5)$, H^2O; ou 6 $(C^6H^{10}O^5)$, H^2O].

Sous ce nom, on désigne diverses substances, peu connues sous beaucoup de rapports, dont la nature chimique est analogue à celle des gommes. Toutefois en microchimie on les distingue facilement de ces dernières, grâce à la couleur bleue ou violette qu'elles acquièrent par l'iode, à la couleur bleu ou violet brunâtre qu'elles prennent par l'iode et l'acide sulfurique. Un grand nombre de mucilages gonflent fortement dans l'eau. *Barcianu* [2] indique comme réaction des mucilages la couleur rouge que prendraient les tissus qui en contiennent lorsqu'on les traite successivement par la créosote, le chlorure d'étain et l'aniline (?).

L'*amyloïde* de *Schleiden* (1844) est certainement une substance de cette nature [3]. L'amyloïde des

1. Kirchner et Tollens. *Unters. üb. den Pflanzenschleim* (*Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd.* 175, p. 205.)
2. Barcianu, *l. c.*, p. 85. (Je n'ai pas essayé moi-même la réaction. V. A. P.)
3. Vogel u. Schleiden, *Amyloid* (in *Schleiden's Beitr. z. Bot.*, I, Bd, 1844; XIII.)

légumineuses se colore en bleu par la teinture d'iode, en jaune par l'eau iodée, et se dissout dans les alcalis étendus et dans l'eau bouillante.

Le violet d'aniline de *Hanstein* (p. 67) colore les substances amyloïdes en rouge, mais avec des nuances différentes de celles que donne le même réactif chez les gommes et le tannin [1].

17. Tannin ($C^{14}H^{10}O^{9}$) Acide tannique).

Les cellules qui contiennent cette substance se colorent en bleu foncé ou en vert quand on les traite par l'acétate (p. 49) ou le chlorure ferrique (p. 39). Le bichromate de potasse (p. 49) les colore en rouge brun, le violet d'aniline de *Hanstein* (p. 67) en rouge fauve, et le chlorure de zinc iodé étendu (p. 8) en rouge ou en violet. Toutes ces réactions exigent un séjour plus ou moins long dans les réactifs [2].

18. Pectine ($nC^{4}H^{6}O^{4} \pm pH^{2}O$).

Souvent la substance intercellulaire ou certaines

1. Voy. aussi Léon Marchand, *Gélatine produite par les algues* (*Bull. Soc. bot. de Fr.*, 1879, p. 287).

2. Pour les détails techniques concernant le tannin, voir Höhnel, *Die Gerberrinden*. Berlin, 1880.

La réaction caractéristique d'un décocté de noix de galles avec le fer était déjà connu de Pline et employée dans l'antiquité pour reconnaître la falsification du vert-de-gris par le vitriol vert. C'est la plus ancienne réaction chimique que l'on connaisse.

couches de la membrane sont transformées en matières pectiques. Celles-ci se reconnaissent à leur gonflement dans l'eau chaude ou les alcalis, à leur solubilité dans ces derniers ainsi que dans l'acide oxalique concentré (p. 28). Avec l'oxyde de cuivre ammoniacal, il se forme du pectinate de cuivre qui reste sur les coupes transversales minces après dissolution complète des autres parties de la membrane.

19. Asparagine ($C^4H^8Az^2O^3$).

Insoluble dans l'alcool absolu et dans une solution concentrée d'asparagine; soluble dans l'eau. En desséchant les coupes ou en les traitant par l'alcool absolu, on obtient des aiguilles cristallines d'asparagine dans les cellules ou dans le liquide ambiant (voy. p. 53).

20. Cristalloïdes[1].

On comprend sous ce nom des matières protéiques cristallisées. Les cristalloïdes sont caractérisés par les réactions de la protéine, par la solubilité dans l'ammoniaque, la potasse étendue et l'acide acétique et de plus par la propriété qu'ils ont de gonfler dans l'eau. Ils sont souvent insolubles dans une solution de potasse au 10 0/0 ou dans

1. Schimper, *l. c.* — Klein, *l. c.*, p. 65.

une solution encore plus forte. Certains cristalloïdes sont solubles dans le chlorure de sodium (p. 37). Un caractère qui n'est pas chimique, il est vrai, mais qui cependant doit être mentionné, c'est l'inconstance de leurs angles. Nous devons citer spécialement les cristalloïdes *rouges*, tabulaires, faiblement biréfringents de certaines Floridées (conservées dans les herbiers ou dans des préparations à la glycérine). Cramer les a nommés cristalloïdes de *Rhodospermine*. Ils sont insolubles dans le chlorure de sodium, qui les décolore.

Les cristalloïdes contenus dans les grains d'aleurone (et de protéine) ne deviennent bien visibles qu'après traitement par la glycérine chauffée, parce qu'alors les conditions de réfraction sont modifiées.

1. Caoutchouc (nC^5H^8) [1].

Se trouve dans le latex de différentes plantes sous forme de petits globules homogènes, qui gonflent dans les huiles éthérées, se dissolvent dans le sulfure de carbone, le chloroforme et la benzine, tandis qu'ils ne sont pas attaqués par les acides étendus et les alcalis.

22. Acide chrysophanique ($C^{15}H^{10}O^4$, Liebermann et Fischer).

1. Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 191. — Duchartre, *Elem.*, p. 74.

Les cellules contenant cet acide se colorent fortement en rouge par l'hydrate de potasse (p. 12). Les granules d'acide chrysophanique des hyphes des Lichens deviennent également rouges par ce réactif, mais s'y dissolvent; au contraire, ils ne se dissolvent pas, mais deviennent néanmoins rouges dans l'eau de chaux ou de baryte. Le carbonate d'ammoniaque ne donne aucune coloration (caractère distinctif d'avec l'émodine). L'acide chlorhydrique n'exerce aucune action. Chauffé légèrement, l'acide chrysophanique réduit le nitrate d'argent (voy. Schwarz. *Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl.*, III, 1880, p. 249).

23. Hypochlorine [1].

Substance cristallisable qui se trouve dans les grains de chlorophylle. En traitant ceux-ci pendant plusieurs heures par l'acide chlorhydrique (ou par l'acide picronitrique, qui toutefois ne donne pas d'aussi bons résultats), l'hypochlorine transsude hors des grains et se présente alors sous forme de gouttes brunâtres, huileuses, ou en masses visqueuses, dont se séparent au bout de quelque temps des corps aciculaires ou bacilliformes ou de fins filaments recourbés.

1. Pringsheim, *l. c.* (voy. *Monatsber.*, Juli 1879, et *Comptes rendus*, janv. 1880, p. 161).

L'hypochlorine est insoluble dans l'eau, les solutions salines, les acides organiques ou inorganiques étendus; elle se dissout facilement dans l'éther, la benzine, les huiles éthérées et le sulfure de carbone.

Par la chaleur, elle se volatilise; des cellules vertes chauffées dans l'eau jusqu'à 50° C. ne donnent, après ce traitement, pas d'hypochlorine par l'acide chlorhydrique. Si l'on fait chauffer de la même manière dans de l'eau les aiguilles d'hypochlorine déjà obtenues par cet acide, elles perdent leur structure cristalline et se réunissent en gouttes huileuses un peu plus verdâtres que les aiguilles cristallines.

24. Huiles grasses.

Elles se présentent sous forme de masses sphériques, fortement réfringentes, solubles dans l'alcool *bouillant*, l'éther, le sulfure de carbone, la benzine et l'essence de térébenthine; elles sont saponifiées par la potasse et la soude et se colorent en brun ou, au bout de quelque temps, en noir par une solution d'acide osmique.

Les huiles grasses qui sont intimement mélangées au protoplasma peuvent en être séparées par l'acide sulfurique concentré ou la solution aqueuse de chlorure de calcium et alors se ramasser en

gouttelettes plus ou moins grosses surtout sur les bords de la préparation.

25. Huiles volatiles ou éthérées.

Masses réfringentes mobiles, visqueuses, souvent de forme allongée. Solubles dans l'alcool *froid* et dans les autres substances mentionnées ci-dessus; mais, de même que les huiles grasses, elles sont insolubles dans l'eau.

26. Résine.

La réaction la plus caractéristique de la résine est peut-être la couleur rouge qu'elle prend par la teinture d'alcanna de *Müller* (p. 55); le violet d'aniline de *Hanstein* (p. 67) colore les résines en bleu.

Elles sont solubles dans l'alcool et l'éther, insolubles dans l'eau. Le réactif de *Franchimont* (et d'*Unverdorben*), c'est-à-dire la solution aqueuse d'acétate de cuivre (p. 50), colore en beau *vert-émeraude* les gouttes de résine après que les gros fragments de tissus qui en contiennent ont séjourné plusieurs jours dans ce liquide.

27. Cire.

Forme des croûtes solides ou des excrétions de forme particulière sur la surface des cellules. Elle fond quand on la chauffe à l'air sec. Elle est inso-

luble dans l'eau froide comme dans l'eau bouillante, mais fusible dans cette dernière. Insoluble ou difficilement soluble dans l'alcool bouillant; soluble dans l'alcool froid, l'éther, le chloroforme, la benzine et le sulfure de carbone.

28. Acide silicique (SiO^2, Silice).

La silice incruste assez souvent la membrane cellulaire (Graminées), le pédicelle des cystolithes; on la trouve même à l'état de masse amorphe dans l'intérieur des cellules (Podostémacées)[1].

Cette substance est insoluble dans presque tous nos réactifs ordinaires; seulement l'*acide fluorhydrique* l'attaque et la dissout; elle disparaît également lorsqu'on fait bouillir les coupes dans une solution de potasse.

On peut reconnaître la silice de la manière suivante : une coupe très fine du tissu à étudier est calcinée sur une lame de platine; par cette opération, toutes les parties organiques des membranes sont détruites; les éléments inorganiques consistant en sels calcaires et en silice restent à l'état de squelette un peu ratatiné. A l'aide d'une goutte d'acide chlorhydrique, les sels calcaires sont enlevés, et l'on a alors la silice sous forme d'un

1. Cario, *Bot. Ztg.*, 1881, p. 31. — Warming, *Kiselsyredannelser hos Podostemaceer*; *Naturh. Forenings vidensk. Meddelelser, Kjobenhavn*, 1881, p. 89.

réseau délicat soluble dans l'acide fluorhydrique.

Pendant la calcination, il peut arriver que la silice fonde avec les sels calcaires et qu'alors la réaction soit notablement compromise; aussi est-il bon, *avant la calcination*, d'éliminer les sels en question par la méthode macératoire de *Schultze;* cette opération faite, les coupes sont lavées à l'eau distillée bouillante; en traitant alors par l'acide chlorhydrique après la calcination, on n'a que la silice comme résidu. L'opération doit être menée avec précaution. Comme objet d'étude, nous recommandons l'épiderme des *Equisetum.*

Une méthode un peu modifiée a été proposée par *Sachs* [1]. De gros fragments de tissu sont recouverts d'une goutte d'acide sulfurique concentré sur une lame de platine et chauffés au-dessus d'une flamme. L'acide noircit aussitôt, et il se fait un vif dégagement de gaz; on calcine jusqu'à ce qu'il ne reste que la cendre pure et blanche. Ce résultat s'obtient un peu plus rapidement par cette méthode que par la précédente.

29. Sels de chaux.

Les sels de chaux se trouvent tantôt à l'état d'incrustations amorphes invisibles dans la membrane cellulaire et peuvent alors être décelés dans

1. Sachs, *Lehrb.*, 1874, p. 37.

les cendres, tantôt sous forme de cristaux bien conformés soit dans la membrane même, soit en dehors de celle-ci dans la cavité cellulaire [1].

Les recherches microchimiques nous ont révélé l'existence de carbonate, d'oxalate, de phosphate et de sulfate de chaux dans les cellules.

1° Le *carbonate de chaux* se dissout avec un vif dégagement de gaz dans les acides dilués; si l'on a employé l'acide sulfurique, il se forme dans le liquide des aiguilles cristallines de gypse (Cystolithes; *Corallina*, *Melobesia*, *Chara*, etc.).

2° L'*oxalate de chaux*, le plus répandu de ces sels, ne se dissout pas dans l'acide acétique, tandis qu'il est soluble dans l'acide chlorydrique, mais *sans dégagement* de gaz; ce sel est insoluble dans une solution aqueuse de potasse et se distingue ainsi du tartrate de chaux.

Se trouve à l'état de matière incrustante dans les poils des graines d'*Asclépias* [2]; sous forme de raphides, de cristaux octaédriques et d'amas de cristaux (mâcles de Rosanoff), etc.

3° Le *phosphate de chaux* [3] a été tout récemment découvert à l'état amorphe dans les végétaux. In-

1. Holzner, *l. c.* — Van der Ploeg, *De oxalsure Kalk in de Planten. Leiden.* 1879.

2. Kabsch, *Bot. Ztg.*, 1863.

3. Nobbe, Hönlein u. Councler : *Landw. Versuchsstat.*, 23 Bd, p. 471 (*Robinia pseudoacacia, Soya hispida*).

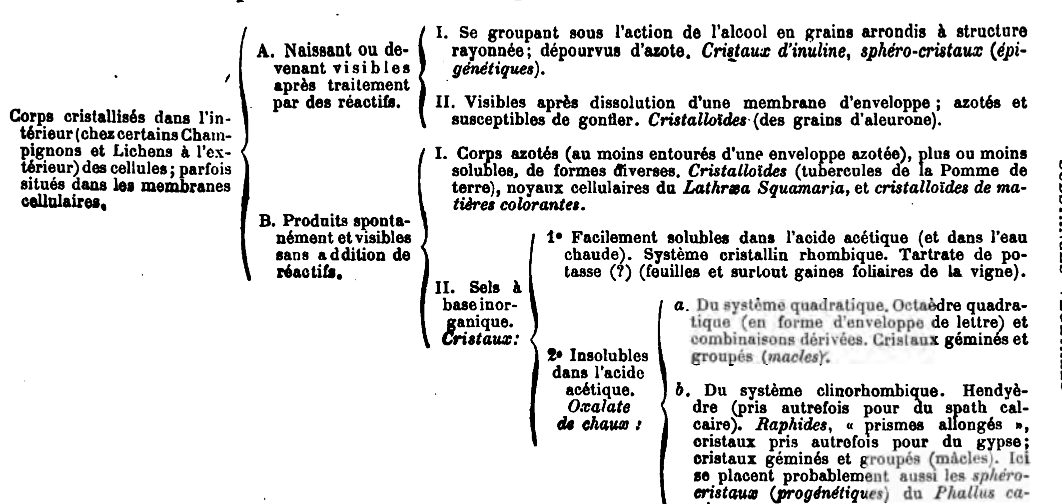
soluble dans l'eau, l'alcool, l'éther et les alcalis, il se dissout sans dégagement de gaz dans l'acide acétique et dans d'autres acides. La réaction caractéristique est la coloration jaune qu'il produit dans une solution neutre étendue de nitrate d'argent.

4° Le *sulfate de chaux* ou gypse est insoluble ou difficilement soluble dans les acides chlorhydrique, nitrique et acétique. Si l'on place des cristaux de ce sel dans une solution aqueuse de chlorure de baryum, ils se recouvrent rapidement d'une couche granuleuse de sulfate de baryte.

Remarque. — L'existence de ce sel à l'état cristallisé dans les cellules est douteuse. N.-J.-C. Müller (*Allg. Bot.*, I Th., 1880, p. 557) en signale des cristaux dans le bois de Gaïac, tandis que Hanbury et Flückiger ne mentionnent que l'oxalate de chaux dans cette plante (*Pharmacographia*, 1874, p. 94). Nägeli (*Mikrosk.*, 1877, p. 486) pense que ce sel n'existe en général pas dans les cellules; Wiesner (*Tech. Mikr.*, p. 85) signale des cristaux géminés de gypse dans le mésophylle des Iris [1].

1. N. J.-C. Müller (*l. c.*, p. 554), dans sa bibliographie concernant l'oxalate de chaux, ne cite pas le travail classique de Holzner sur les cristaux des plantes. Dans cet ouvrage, Holzner démontre que les cristaux pris pour du sulfate de chaux, dans le Gaïac et l'Iris, etc., ne sont autre chose que de l'oxalate de chaux. L'existence de cristaux de sulfate de chaux dans les plantes n'est donc *nullement démontrée*. — Sur les cristaux des plantes et les sels de chaux en général, voir de plus : Vesque, *l. c.* — Gulliver, *l. c.* — Hugo de Vries, *l. c.* (A. Poli.)

Division des corps à formes cristallines qui existent dans les cellules végétales [1].



Corps cristallisés dans l'intérieur (chez certains Champignons et Lichens à l'extérieur) des cellules; parfois situés dans les membranes cellulaires.

- A. Naissant ou devenant visibles après traitement par des réactifs.
  - I. Se groupant sous l'action de l'alcool en grains arrondis à structure rayonnée; dépourvus d'azote. *Cristaux d'inuline*, *sphéro-cristaux* (*épigénétiques*).
  - II. Visibles après dissolution d'une membrane d'enveloppe; azotés et susceptibles de gonfler. *Cristalloïdes* (des grains d'aleurone).
- B. Produits spontanément et visibles sans addition de réactifs.
  - I. Corps azotés (au moins entourés d'une enveloppe azotée), plus ou moins solubles, de formes diverses. *Cristalloïdes* (tubercules de la Pomme de terre), noyaux cellulaires du *Lathræa Squamaria*, et *cristalloïdes de matières colorantes*.
  - II. Sels à base inorganique. *Cristaux:*
    - 1° Facilement solubles dans l'acide acétique (et dans l'eau chaude). Système cristallin rhombique. Tartrate de potasse (?) (feuilles et surtout gaines foliaires de la vigne).
    - 2° Insolubles dans l'acide acétique. *Oxalate de chaux:*
      - *a*. Du système quadratique. Octaèdre quadratique (en forme d'enveloppe de lettre) et combinaisons dérivées. Cristaux géminés et groupés (*macles*).
      - *b*. Du système clinorhombique. Hendyèdre (pris autrefois pour du spath calcaire). *Raphides*, « prismes allongés », cristaux pris autrefois pour du gypse; cristaux géminés et groupés (mâcles). Ici se placent probablement aussi les *sphéro-cristaux* (*progénétiques*) du *Phallus caninus*.

1. Holzner *Bemerkungen, etc*. (Voy. *Bibliogr.*)

30. Fer.

On a trouvé le fer dans la membrane même des cellules [1]. Les coupes doivent être faites avec un rasoir en platine ou en argent et puis traitées par une solution de sulfocyanate de potasse (p. 49); la couleur rouge qui apparaît aussitôt, ou en tout cas après traitement par l'acide chlorhydrique, indique la présence d'un composé ferrique. S'il ne se manifeste aucune réaction, les coupes sont traitées par l'eau chlorée ou l'acide nitrique et en même temps par le sulfocyanate de potasse. Les composés d'oxyde ferreux, s'il en existe, sont alors oxydés et se reconnaissent à la même coloration rouge.

31. Soufre.

A l'état pur, cristallin, on ne l'a trouvé jusqu'à présent que dans les bactéries produisant de l'hydrogène sulfuré dans les eaux minérales chaudes ou dans les Algues marines en putréfaction, qu'elles habitent. Le soufre est soluble dans le sulfure de carbone; il donne une réaction violette par le nitroprussiate de soude dans un liquide alcalin (p. 48); il ne donne aucune coloration noire dans la solution d'acide osmique, et se distingue ainsi facilement des huiles grasses, avec lesquelles il présente souvent beaucoup d'analogie sous le rapport optique.

1. Weiss u. Wiesner, *Sitzber. d. Wien. Akad.*, 1860 XL Bd. — *Bot. Ztg.*, 1860, p. 357.

MATIÈRES COLORANTES [1]

A. — *Du protoplasma.*

32. Chlorophylle.

Matière verte, insoluble dans l'eau, dans les acides étendus et les alcalis étendus, mais soluble dans l'éther, la benzine et l'alcool. Elle est décolorée par la liqueur de Labarraque; elle devient jaunâtre par les acides étendus; vert bleuâtre ou bleu par les acides chlorhydrique ou sulfurique concentrés [2].

Les corps chlorophylliens prennent une teinte verte plus intense dans le vert d'aniline (p. 70) et déposent après un traitement prolongé par l'acide chlorhydrique des cristaux d'hypochlorine (p. 98).

D'après Pringsheim, on peut considérer les matières colorantes suivantes comme des modifications de la chlorophylle :

a. *Etioline.* — Matière colorante jaune des organes

1. Näg., *Mikr.*, p. 528. — Voy. aussi la *Bibliographie*, à la p. XX de l'Introduction.

2. M. Bommer pense que cette coloration bleue qui se traduit aussi par la dessiccation des organes avancés en âge de certaines plantes (*Phajus maculatus*), est due à de l'*indican* (indigo blanc) transformé en indigo, qui existerait dans la chlorophylle en proportions excessivement minimes. L'origine de la phyllocyanine est probablement due à la même transformation. (*Bull. Soc. bot. de France*, 1873.)

végétaux étiolés. Elle est soluble dans l'alcool e l'éther. Cette solution se colore plus tard en ver émeraude ou en vert-de-gris; souvent, au bout d plusieurs heures, elle bleuit par l'acide chlorhy drique ou l'acide sulfurique. L'étioline est insolu ble dans l'eau.

b. *Xanthophylle* (Berzelius, Pringsheim). — Ma tière colorante jaune des feuilles des arbres en au tomme; soluble dans l'alcool et l'éther, insolubl dans l'eau. Ne se colore qu'en vert émeraude pa les acides sulfurique et chlorhydrique.

c. *Anthoxanthine* (Marcquart, Pringsheim) ou jaun des fleurs. — Matière colorante jaune des fleurs des fruits et des graines. Se présente, comme l chlorophylle, unie à des corps protoplasmiques plus rarement sous forme de gouttelettes jaune huileuses, plus rarement encore dans le suc cellu laire. Cette dernière variété (*Anthochlorine* de Prant *Xanthéine* de Frémy) est soluble dans l'eau, tandi que les autres y sont insolubles, mais solubles dan l'alcool et l'éther. Les Anthoxanthines soluble dans ces liquides (*Xanthine* de Frémy, *Lutéine* d Thudicum) se colorent en vert, comme la Xantho phylle, et finalement bleuissent, comme l'étioline par les acides, ce qui n'a pas lieu pour la variété so luble dans l'eau. L'*Anthochlorine* devient jaune ver par les solutions d'hydrate de potasse; en neutra

lisant la liqueur, la couleur primitive réapparaît.

d. *Vert des Floridées* (Pringsheim). — La chlorophylle des Floridées, qui présente les mêmes réactions chimiques que la chlorophylle proprement dite des végétaux supérieurs, doit être considérée, d'après Pringsheim, comme une variété de cette dernière, à cause de ses propriétés optiques différentes.

e. *Phycoérythrine* (Kützing et Cohn). — Matière colorante rouge des Floridées; soluble dans l'eau, elle peut par ce liquide être extraite du corps protoplasmique mort. Exposée à la lumière et à l'air libre, elle se décolore; cette décoloration est produite également par la potasse. L'acide sulfurique n'altère pas la couleur [1].

Remarque. — Pour apprendre à bien connaître les matières colorantes précédentes, de même que les suivantes, il est nécessaire de les soumettre à l'analyse spectrale (voir : Sachsse, *l. c.*).

33. Chlororufine (Rosfafinski [2], 1881).

Les oospores de plusieurs Algues (*Œdogonium*,

1. Nägeli et Schwendener (*Mikr.*, 1877, p. 848) comprennent sous le nom de rouge des Floridées toute la matière colorante de ces algues : Chlorophylle et Phycoérythrine. Sachsse accepte ce nom avec la signification qu'y attache Kützing; je fais de même ici. Je passe sous silence la *phycohématine* de Kützing (du *Rhytiphlœa tinctoria*), parce qu'elle a besoin d'être mieux étudiée.

2. *Bot. Ztg.* 1881, p. 461.

Vaucheria), les anthéridies de *Chara*, les cellules de certains fruits charnus (p. ex. *Capsicum*) sont colorées en rouge par une substance nommée *chlororufine*. La réaction caractéristique est celle que donne l'acide sulfurique concentré, qui produit une coloration *bleue* très intense. Cette réaction indique une analogie frappante avec le *chrysoquinone* de M. Liebermann. L'acide nitrique fumant dissout la chlororufine, tandis qu'une solution d'acide nitrique ordinaire ne possède pas cette propriété. La réaction produite par l'acide sulfurique a été découverte par M. de Bary en 1856 [1]. La chlororufine est peut-être identique avec la *Solanorubine* de M. Millardet (1876) [2] et vraisemblablement une partie constituante de la *Xanthine* de Frémy [3].

34. Phycochromine (Sachsse).

C'est la *phycochromine* de Nägeli moins la chlorophylle, c'est-à-dire la matière colorante qui avec la chlorophylle donne à certaines Algues leur coloration *vert bleuâtre*. Elle est soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et consiste probablement en *Phycocyanine* (Sachsse) [4] ou bleu des Algues et en

1. *Ber. d. naturf. ges.* Freiburg, 1856, n° 13.
2. *Note sur une substance colorante nouvelle*. Nancy, 1876.
3. J'ai trouvé aussi que la matière colorante rouge des carottes (*carottine?*) se colore en bleu par l'acide sulfurique. (V. A. P.)
4. La *phycocyanine* de Kützing est la substance colorante, soluble dans l'eau, des Oscillariées.

phycoérythrine mélangées en proportions variables.

Les cellules contenant de la phycochromine prennent une coloration intermédiaire entre le jaune verdâtre et le jaune brunâtre par les alcalis, et se colorent en orangé ou rouge brique par l'acide chlorhydrique.

35. Palmelline (Phipson)[1].

Matière colorante *rouge* du *Porphyridium cruentum* Näg.; elle est soluble dans l'eau; l'alcool et l'acide acétique produisent dans cette solution un précipité *filamenteux;* l'ammoniaque et les alcalis donnent ce même précipité, mais le liquide devient en même temps bleu. Le sulfhydrate d'ammoniaque colore la palmelline en jaune sans produire de précipité filamenteux.

36. Phycoxanthine (Millardet Askenasy).

Substance colorante jaune des Bacillariées et des Fucacées; plus facilement soluble dans l'alcool que la chlorophylle. Chez les Bacillariées, elle forme avec la chlorophylle l'*endochrome*[2] jaune brun et a aussi été nommée *Diatomine* (Nägeli,

1. *Comptes rendus*, 1879, août, n° 5, p. 316. — Schnetzler, *Bull. d. Soc. Vaud. d. sc. nat.*, 2° sér., vol. 15.

2. Petit, *De l'endochrone des Diatomées*, *Brebissonia*, II, ann. 1880, n° 7, p. 81. — La composition de l'endochrome a été donnée en 1868 par Kraus et Millardet.

1849). On l'extrait facilement du thalle des Fucacées avec de l'alcool étendu (40 0/0,) qui n'agit pas sur la chlorophylle. De faibles quantités d'un acide colorent la phycoxanthine en vert bleuâtre; les alcalis de même que la lumière n'ont qu'une action peu sensible [1].

37. Phycophéine (Millardet).

Matière colorante brune soluble dans l'eau, mais non dans l'alcool. Exige des recherches ultérieures. Se trouve dans le thalle des Fucacées mélangée à de la chlorophylle et de la phycoxanthine.

B. — *Du suc cellulaire.*

(*Anthoxanthine.* Il a déjà été question plus haut (p. 108) d'une de ses variétés solubles.)

38. Anthocyanine (Marquart; *Cyanine* de Frémy et Cloez).

Matière colorante bleue de beaucoup de fleurs. L'*érythrophylline* des sucs cellulaires rouges ou violets est probablement identique à l'anthocyanine ou n'en est qu'une simple modification. Les cellules à anthocyanine se colorent en rouge par les acides; les alcalis leur rendent leur couleur

1. Voir Petit, *l. c.*

bleue primitive (tout comme il arrive pour le tournesol); si les alcalis agissent longtemps, la couleur bleue passe au vert, au vert jaunâtre ou au jaune. Toutefois on a pensé que ces dernières nuances seraient produites par un tannin à réaction verte contenu dans le suc cellulaire.

Chez le *Strelitzia Reginæ* et le *Tillandsia amœna*, Hildebrand trouva l'anthocyanine unie à de petits globules solubles dans la potasse, l'alcool et l'ammoniaque, qui brunissent par l'iode et sont probablement de nature protoplasmique.

Un fait à mentionner, c'est que l'anthocyanine peut former avec les sels métalliques une combinaison insoluble verte (Frémy et Cloez) ou bleue (Wiesner). Certaines cellules contenant de l'anthocyanine, colorées d'abord en rouge par un acide, puis lavées soigneusement à l'eau distillée, jusqu'à ce qu'elles ne renferment plus d'acide libre, prennent une couleur bleue dans la solution de chlorure ferrique (*Gentiana verna*); comme la même coloration se produit par l'acétate de plomb, elle ne saurait être attribuée à du tannin.

39. Matière colorante de la garance [1].

Elle forme des masses jaunes dans les cellules

1. Decaisne, *Rech. anat. et physiol. sur la Garance et le développement de sa matière colorante* Bruxelles, 1837. — Rosenstiehl, *Ann. de chim. et de phys.*, 5e sér., t. XIII, p. 148.

fraîches de la racine de garance; sous l'action de l'air, elle devient rapidement rouge et floconneuse et passe dans les membranes. La solution de potasse la colore en rouge pourpre et lui permet de se répandre dans le liquide ambiant; par le chlorure ferrique, elle devient orangé et finalement brun rouge. L'alcool dissout la matière colorante fraîche qui est jaune, mais non pas celle qui a été rougie par le contact de l'air.

C. — *Des membranes.*

40. Matières colorantes des bois tinctoriaux (*Fernambouc, Bois du Brésil, Sandal, etc.*).

Ces substances existent aussi bien dans le contenu que dans les membranes cellulaires, surtout dans la lamelle moyenne; il est probable qu'elles ne pénètrent que tardivement dans les membranes.

Ces substances colorantes sont solubles dans l'eau chaude, dans la glycérine, dans les acides et les alcalis.

« Les alcalis la dissolvent très facilement et lui donnent une teinte carminée ou violette; l'alcool et l'éther donnent une solution incolore ou colorée en jaune, orangé ou rouge carminé. La glycérine te l'eau donnent des solutions jaunes, orangées,

carminées, rouges, brunes ou violettes, à l'exception du Sandal, dont la matière colorante n'est pas soluble dans l'eau bouillante; le liquide cupro-ammoniacal donne une coloration violette, rarement bleue, l'acide acétique une coloration jaune; l'acide sulfurique ne se colore pas du tout (Sandal, *Pterocarpus*) ou devient rouge de sang. » (Weiss, *Allg. Bot.*, I, p. 137.)

41. Matière colorante de la racine de Berberis.

Cette substance colorante jaune existe dans les membranes des vaisseaux, des cellules ligneuses, des rayons médullaires libériens et des cellules de l'écorce externe. On la trouve également dans le contenu cellulaire de tous les systèmes de tissus à l'exception des vaisseaux spiralés.

Les acides étendus amènent la séparation de petites gouttes jaunes animées de mouvements browniens; la solution de potasse bouillante produit une coloration jaune brun. Cette matière colorante se dissout dans la glycérine et dans l'eau. L'extraction par l'eau se fait très vite dans les coupes préalablement desséchées; dans la liqueur jaune ainsi obtenue, l'acide chlorhydrique produit des agrégats jaunes, souvent irradiés, de chlorhydrate de Berbéridine.

42. Gléocapsine.

Substance colorante rouge ou bleue qui existe dans les membranes du *Gloeocapsa* et de quelques algues filamenteuses. Par l'acide chlorhydrique, elle devient rouge ou rouge-brun; par la potasse hydratée, elle se colore en bleu ou en violet.

43. Scytonémine.

Substance colorante jaune ou brune qui existe dans les membranes d'un grand nombre de Phycochromacées. Par l'acide chlorhydrique, elle devient vert-de-gris; par les alcalis, elle devient de nouveau jaune.

FIN

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS v
INTRODUCTION IX
BIBLIOGRAPHIE XIII

PREMIÈRE PARTIE

1. Iode.... 1
2. Chlorure de zinc iodé.... 8
3. Hydrate de potasse.... 10
4. Ammoniaque.... 15
5. Solution cupro-ammoniacale. 16
6. Acide sulfurique.... 18
7. — nitrique.... 20
8. — chromique.... 21
9. — osmique.... 22
10. — phosphorique.... 24
11. — chlorhydrique.... 25
12. — acétique.... 26
13. — oxalique.... 28
14. — phénique.... 28
15. Alcool.... 29
16. Gylcérine.... 32
17. Ether, benzine, chloroforme, sulfure de carbone. Huiles éthérées.... 34
18. Chlorure de sodium.... 37
19. — de calcium.... 37
20. — de mercure.... 38
21. — ferrique.... 39
22. Chlorate de potasse.... 40
23. Sulfate de cuivre.... 42
24 Sulfate d'alum. et de pot.... 44
25. Nitrate de potasse.... 45
26. — d'argent.... 45
27. — mercuroso - mercurique.... 46
28. Chlorure d'or.... 47
29. Nitroprussiate de soude.... 48
30 Ferrocyanure de potassium. 48
31. Sulfocyanate de potasse.... 49
32. Bichromate de potasse.... 49
33. Acétate de fer.... 49
34. — de potasse.... 50
35. — de cuivre.... 50
36. Sulfate d'aniline.... 50
37. Chlorhydrate d'aniline.... 51
38. Solution de sucre de canne. 52
39. Asparagine.... 53
40. Phloroglucine.... 53
41. Teinture d'alcanna.... 55
42. Cochenille.... 55
43. Carmin.... 56
44. Picrocarminate d'ammoniaque.... 60
45. Hématoxyline.... 62
46. Indol.... 63
47. Eosine.... 64
48. Acide rosolique.... 64
49. Nigrosine.... 65
50. Couleurs d'aniline.... 65
a. Fuchsine.... 66
b. Bleu d'aniline.... 66
c. Violet d'aniline.... 67
d. Violet de méthyl-aniline.. 68
e. Brun d'aniline.... 69
f. Vert d'aniline.... 70

APPENDICE

Substances conservatrices des préparations.............. 71
2. Glycérine.................. 71
3. Gélatine glycérinée......... 72
1. Chlorure de calcium....... 73
4. Acétate de potasse.......... 73
5. Baume du Canada.......... 74
6. Naphtaline monobromée.... 74
Mastics pour luter les préparations.................... 75

DEUXIÈME PARTIE

1. Cellulose................. 78
2. Lignin.................... 79
3. Substance intercellulaire... 81
4. Subérine.................. 81
5. Substance des membranes des champignons........ 82
6. Matières protéiques........ 84
7. Protoplasma.............. 85
8. Nucléine.................. 88
9. Amidon.................. 88
10. Dextrine................. 91
11. Glucose................. 91
12. Saccharose.............. 92
13. Inuline.................. 92
14. Hespéridine.............. 93
15. Gomme................. 93
16. Mucilage............... 94
17. Tannin................. 95
18. Pectine................ 95
19. Asparagine.............. 96
20. Cristalloïdes............. 96
21. Caoutchouc............. 97
22. Acide chrysophanique..... 97
23. Hypochlorine............. 98
24. Huiles grasses............ 99
25. Huiles volatiles............ 100
26. Résine.................. 100
27. Cire................... 100
28. Acide silicique........... 101
29. Sels de chaux............ 102
30. Fer.................... 106
31. Soufre................. 106
32. Chlorophylle............. 107
Etioline............. 107
Xanthophylle.......... 108
Anthoxanthine......... 108
Vert des Floridées...... 109
Phycoerythrine......... 109
33. Chlororufine............. 109
34. Phycochromine.......... 110
35. Palmelline.............. 111
36. Phycoxanthine........... 111
37. Phycophéine............ 112
38. Anthocyanine............ 112
39. Matière colorante de la garance............ 113
40. Matières color. des bois.... 114
41. Racine de Berberis....... 115
42. Gléocapsine............. 116
43. Scytonémine............ 116

RÉACTIFS, RÉACTIONS ET MÉTHODES SPÉCIALES.

Barcianu. — Réaction des mucilages.......................... 94
Barfœd. — Réaction du glucose.............................. 91
Bary (de) — Réaction de l'épiplasma......................... 87
Beale (Carmin de).. 59
Franchimont (*Unverdorben*). — Réaction des résines......... 50, 100
Grenacher (Carmin aluné de).............................. 57
Hanstein. — Méthode d'éclaircissement des tissus............ 12
— Violet d'aniline............................ 67
— Réaction du métaplasma..................... 86
Höhnel. — Réaction de l'acide cériniqpe..................... 20
— Réaction de la xylofiline........................ 54

A LA MÊME LIBRAIRIE :

REVUE INTERNATIONALE

DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Paraissant le 15 de chaque mois, depuis le 1er janvier 1878.

Par cahiers de 100 pages grand in-8, avec figures,

DIRIGÉE PAR J.-L. DE LANESSAN

Professeur agrégé d'histoire naturelle à la Faculté de médecine,
Député de Paris.

Collaborateurs : MM. P. ASCHERSON, C. BERGERON, A. BERGNAC, R. BLAN
CHARD, BOCHEFONTAINE, A. BORDIER, P. BUDIN, CADIAT, CARLET, FERDINAN
COHN, M. CORNU, ANNA DAHMS, FRANCIS DARWIN, DASTRE, DONDERS, G. DU
TAILLY, MATHIAS DUVAL, EGASSE, ENGEL, F.-A. FLUCKIGER, GARIEL, A. GAU
THIER, GAY, U. GAYON, GIARD, GUILLAUD, ERNEST HÆCKEL, HENNEGUY, P. P
C. HOECK, A. HOVELACQUE, JOLYET, JOURDAIN, KUHFF, KURTZ, KUNCKEL
D'HERCULAIS, LAFFONT, LANDOLT, F. LATASTE, ANDRÉ LEFÈVRE, CH. LETORT,
LUYS, MAGNUS, MALASSEZ, CH. MARTINS, MASSON, STANISLAS MEUNIER, MOI-
TESSIER, MOQUIN-TANDON, ED. MORREN, DE MORTILLET, NYLANDER, ONIMUS,
E. PERRET, RANVIER, REGNIARD, CH. ROUGET, SABATIER, SCHNEIDER, SCHUT-
ZENBERGER, DE SINÉTY, STRASBURGER, SCHWENDENER, TERRIER, TOPINARD,
TREUB, A. VULPIAN, CARL VOGT, WEBER, F. WURTZ.

ABONNEMENT :

UN AN			SIX MOIS		
Paris....................	20 f	»	Paris....................	11 f	»
Départ. et Alsace-Lorraine.	22	»	Départ. et Alsace-Lorraine..	12	»
Étranger..................	25	»	Etranger..................	13	»
Pays d'outre-mer..........	30	»	Pays d'outre-mer..........	17	»

Prix du numéro : 2 francs.

Deux volumes gr. in-8° de 600 pages chacun par année.

Les années 1878, 1879, 1880, 1881 et 1882, formant 10 forts volumes, sont en vente.

Prix de l'année 1878. . . . . 30 francs.
Prix de chaque année suivante . . . . 20 francs.
Prix de chaque volume séparément . . 10 francs.

Indépendamment d'articles de longue haleine, la *Revue internationale des sciences biologiques* publie les comptes rendus de toutes les principales Sociétés savantes, françaises ou étrangères, l'analyse des principaux ouvrages relatifs aux sciences biologiques, et chaque mois quatre pages très compactes de bibliographie relative à la morphologie, à l'anatomie et à la physiologie des animaux et des végétaux, à l'anthropologie, à la linguistique, à la paléontologie, à la physique et à la chimie biologiques. Elle publiera ainsi successivement la liste de tous les livres ou mémoires publiés par les principaux savants encore vivants de la France et de l'étranger.

COULOMMIERS. — Typographie PAUL BRODARD.